

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

FABIANE OLIVEIRA FARIAS

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMAS DE DUAS FASES
AQUOSAS COMPOSTOS POR SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS
APLICADOS NA SEPARAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS

CURITIBA
2019

FABIANE OLIVEIRA FARIAS

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMAS DE DUAS FASES
AQUOSAS COMPOSTOS POR SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS
APLICADOS NA SEPARAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS

Tese de Doutorado apresentada ao curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Marcos R. Mafra

Co-orientador: Prof. Dr. João A. P. Coutinho

CURITIBA
2019

F224d

Farias, Fabiane Oliveira

Desenvolvimento e caracterização de sistemas de duas fases aquosas compostos por solventes eutéticos profundos aplicados na separação de biomoléculas [recurso eletrônico] / Fabiane Oliveira Farias – Curitiba, 2018.

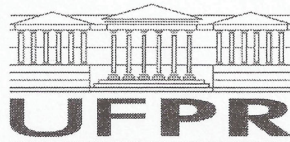
Tese (doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Programa de PósGraduação em Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia Química, Setor de Tecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Marcos R. Mafra

Coorientador: Prof. Dr. João A. P. Coutinho

1. Engenharia de alimentos. 2. Extração por solventes. I. Universidade Federal do Paraná. II. Mafra, Marcos R.. III. Coutinho, João A. P. IV. Título.

CDD 660.2948



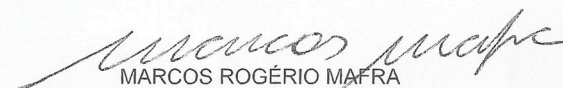
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA DE
ALIMENTOS - 40001016019P6

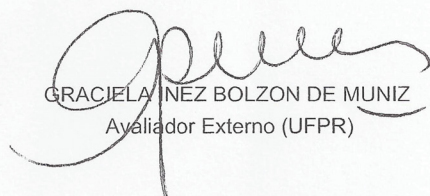
TERMO DE APROVAÇÃO

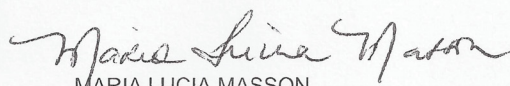
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA DE ALIMENTOS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **FABIANE OLIVEIRA FARIAS** intitulada: **Desenvolvimento e caracterização de sistemas de duas fases aquosas compostos por solventes eutéticos profundos aplicados na separação de biomoléculas**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

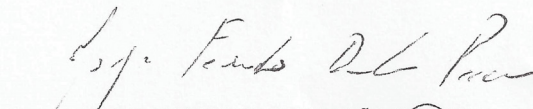
A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

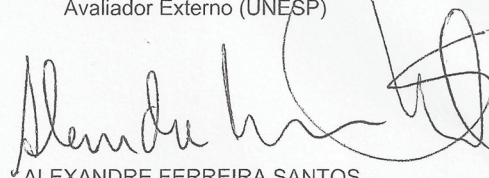
Curitiba, 12 de Fevereiro de 2019.


MARCOS ROGÉRIO MAFRA
Presidente da Banca Examinadora


GRACIELA INEZ BOLZON DE MUNIZ
Avaliador Externo (UFPR)


MARIA LUCIA MASSON
Avaliador Interno (UFPR)


JORGE FERNANDO BRANDÃO PEREIRA
Avaliador Externo (UNESP)


ALEXANDRE FERREIRA SANTOS
Avaliador Externo (UFPR)

*À minha família pelo amor e apoio
incondicionais que me trouxeram até aqui...*

AGRADECIMENTOS

A Deus por seu meu sustento na caminhada, mesmo nos momentos de pouca fé.

Ao Prof. Marcos Mafra, pelos desafios propostos, por acreditar no meu trabalho, pelos conselhos e motivação que me fizeram crescer e que levarei comigo onde eu estiver.

Ao Professor João Coutinho pela acolhida na Universidade de Aveiro e pelos valiosos ensinamentos os quais foram fundamentais para minha formação.

Aos meus pais, Luiz Fernando (*In memoriam*) e Ione, por serem meus exemplos de força, dedicação, trabalho e amor.

Ao Diulhio, meu companheiro de vida, pelo apoio nessa caminhada e por sempre acreditar em mim, mais do que eu mesma.

A toda minha família, em especial a minha irmã Fernanda, por estar sempre presente e pelo apoio incondicional. Aos meus padrinhos, Rosi e João, por serem meus pais do coração e as minhas afilhadas, Lauren e Natália, por trazerem leveza aos meus dias.

Aos colegas do LATOS pelos anos de convivência e experiências compartilhadas e a todos os amigos que fiz nesse período, em especial a Tâmisa, Filipe e Danielle.

A Helena Passos pelos conhecimentos compartilhados durante minha estadia na Universidade de Aveiro e a todos os membros do grupo PATh pela acolhida.

A Central Analítica da Universidade Federal do Paraná, em especial a Andrea, pela disponibilidade e auxílio sempre que foi necessário.

As amigas de vida, Melina e Ariana, amigos são a família que escolhemos com o coração.

As amigadas “brasileiras” que fiz durante o doutorado sanduíche, as quais tornaram o caminho mais fácil e amenizaram a saudade de casa.

A Universidade Federal do Paraná e ao Departamento de Engenharia Química por disponibilizar a estrutura necessária para realização desta tese.

A CAPES pelo apoio financeiro e pela oportunidade em participar do Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE).

A todos que sempre estiveram comigo e que de alguma forma fizeram a diferença em minha trajetória, muito obrigada!

*Só é honesto esperar pelo impossível depois de
ter esgotado todas as possibilidades. Só merece
o lugar quem se dispõe a desbravar o caminho.*

(Fábio de Melo)

RESUMO

Os solventes eutéticos profundos (DES, do inglês *Deep Eutectic Solvents*) têm sido aplicados nos últimos anos como uma alternativa para substituir os formadores de fases convencionais em sistemas de duas fases aquosas (SDFA), apresentando boa capacidade na separação de diferentes biomoléculas. *Entretanto*, o alto teor de água presente nos SDFA resulta na quebra das ligações de hidrogênio formadoras dos DES, levando a uma partição não estequiométrica entre o doador e receptor de hidrogênio dos DES. Tem-se, nesse caso, a formação de um sistema quaternário. Neste trabalho, sistemas compostos por sais quaternários de amônio (cloreto de colina e cloreto de tetrabutilamônio) e diferentes doadores de hidrogênio (açúcares e álcoois), foram aplicados em SDFA (com sal ou polímero) com o objetivo de avaliar a capacidade desses sistemas de atuarem no desenvolvimento de solventes (*designer solvent*) dedicados à separação e purificação de biomoléculas (compostos fenólicos, aminoácidos e alcaloides). Os resultados obtidos indicam que a escolha dos compostos formadores dos DES e dos SDFA apresentam influência direta nas propriedades das fases destes sistemas. Além disso, a hidrofiliicidade relativa dos DES e/ou dos formadores das fases é um fator a ser considerado quando se desejam obter sistemas pseudo-ternários, ou seja, onde se torna possível manter a estequiometria inicial do DES utilizado. De maneira geral, verificou-se ainda que os sistemas quaternários são sistemas versáteis de modo que um dos componentes formadores dos DES atua como agente formador de fase enquanto o outro promove modificações nas propriedades das fases dos sistemas, como sua hidrofiliicidade/hidrofobicidade, por exemplo. Assim se torna possível obter sistemas versáteis com diferentes características físico-químicas e controlar a partição de biomoléculas. Desta forma, as diferentes moléculas formadores dos DES, principalmente as moléculas doadores de hidrogênio, atuam como aditivos aos SDFA delineando as características das fases formadas o que faz com esses sistemas quaternários possam ser obtidos em função da biomolécula alvo.

Palavras-chave: Extração líquido-líquido. Sistemas quaternários. Desenvolvimento de solventes. Compostos fenólicos. Aminoácidos. Alcaloides.

ABSTRACT

Deep eutectic solvents (DES), in the last years, has been applied as substitutes for conventional phase formers in aqueous two-phase systems (ATPS) with a good capacity of partitioning several biomolecules. However, due to the high water content in the ATPS, the hydrogen bonds between the DES components is broken and a non-stoichiometric partition between the hydrogen bond donor and the hydrogen bond acceptor of the DES is observed. So, these systems are quaternary systems. In this work, different DES composed of ammonium quaternary salts (cholinium chloride and tetrabutylammonium chloride) and several hydrogen bond donors (sugars and alcohols) were applied in salt or polymer-based ATPS, with the may purpose of evaluate the designer solvent ability of the DES in biomolecules (phenolic compounds, amino acids and alkaloids) separation and purification process. The results suggest that the choice of the DES and ATPS compounds have a direct influence on the phase behavior of these systems. Besides, the DES and/or phases formers relative hydrophilicity is a factor that needs to be considered to obtain ATPS with pseudo-ternary characteristics, in other words, where it is possible to maintain the initial DES stoichiometry. In general, was verified that the quaternary system are versatile systems, since while one of the DES components acts as a phase forming component, the other could induce the modification of the ABS phase properties, how in it hydrophobicity or hydrophilicity, for example. Considering this, is possible to obtain systems with different properties and to control the partition of biomolecules. In this way, the hydrogen bond donors evaluated act as additives to the systems and were able to design the characteristics of the phases in function of a target biomolecule.

Key-words: Liquid-liquid extraction. Quaternary systems. Designer solvent. Phenolic compounds. Amino acid. Alkaloids.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – SÉRIE DE HOFMEISTER.....	22
FIGURA 2 – DIAGRAMA DE FASES DE UMA MISTURA A + B + H ₂ O (C), ONDE: (A) REPRESENTAÇÃO TRIANGULAR E (B) REPRESENTAÇÃO BINÁRIA.	27
FIGURA 3 - ESQUEMA DE DIAGRAMA DE FASE SÓLIDO-LÍQUIDO PARA UMA MISTURA EUTÉTICA BINÁRIA.....	28
FIGURA 4 – NÚMERO DE ARTIGOS POR ANO/ PAÍS ENVOLVENDO DES ENTRE OS ANOS DE 2004 E 2018.	29
FIGURA 5 - NÚMERO DE ARTIGOS POR ANO ENVOLVENDO DES APLICADOS A SDFA ENTRE OS ANOS DE 2014 E 2018.....	31
FIGURA 6 – ESQUEMA DE ORGANIZAÇÃO DA TESE	37
FIGURA 7 – DIAGRAMA DE FASES A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA DOS SDFA COMPOSTOS POR DES + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O, UTILIZANDO DIFERENTES DOADORES DE HIDROGÊNIO A DIFERENTES RAZÕES MÁSSICAS COM [N ₁₁₁ (2OH)]Cl: (■) 2:1, (▲) 1:1, (◆) 1:2 E PARA O SISTEMA (●) [N ₁₁₁ (2OH)]Cl + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O.....	54
FIGURA 8 - DIAGRAMA DE FASES DOS SDFA COMPOSTOS POR DES + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE [N ₁₁₁ (2OH)]Cl COM DIFERENTES DOADORES DE HIDROGÊNIO: GLUCOSE (AZUL), FRUTOSE (VERMELHO) E SACAROSE (VERDE), A DIFERENTES RAZÕES MÁSSICAS COM [N ₁₁₁ (2OH)]Cl: (●) 2:1, (■) 1:1, (▲) 1:2 E (---) O AJUSTE DA EQUAÇÃO (13) PARA O SISTEMA [N ₁₁₁ (2OH)]Cl + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	54
FIGURA 9 – DADOS DE ELL PARA O SDFA: [N ₁₁₁ (2OH)]Cl + K ₂ HPO ₄ e H ₂ O: (●) CURVA BINODAL, (Δ) LINHAS DE AMARRAÇÃO, (■) COMPOSIÇÃO GLOBAL E (○) PONTO CRÍTICO PARA O A 25°C.....	55
FIGURA 10 - RAZÃO MOLAR ENTRE RECEPTOR (RH) E DOADOR DE HIDROGÊNIO (DH) NO DES INICIAL (LINHAS CONTÍNUAS E TRACEJADAS) PARA E AS FASES DOS SDFA: (○) [N ₁₁₁ (2OH)]Cl: GLUCOSE , (Δ) [N ₁₁₁ (2OH)]Cl: FRUTOSE E (□) [N ₁₁₁ (2OH)]Cl: SACAROSE.....	57
FIGURA 11 – REPRESENTAÇÃO TRIDIMENSIONAL DOS SISTEMAS QUATERNÁRIOS [N ₁₁₁ (2OH)]Cl + DOADOR DE HIDROGÊNIO + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O EM DIFERENTES RAZÕES [N ₁₁₁ (2OH)]Cl: AÇÚCARES: (●) 2:1, (●) 1:1 E (●) 1:13, PARA O SISTEMA (●) TERNÁRIO [N ₁₁₁ (2OH)]Cl + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O. (-▲-)AS LINHAS DE AMARRAÇÃO TAMBÉM FORAM APRESENTADAS	58
FIGURA 12 - COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K _{AG}) E EFICIÊNCIA NA EXTRAÇÃO (EE _{AG} %) DE ÁCIDO GÁLICO EM SISTEMAS COMPOSTOS POR [N ₁₁₁ (2OH)]Cl/ [N ₁₁₁ (2OH)]Cl: AÇÚCARES + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	62

FIGURA 13 - K_{AG} (SÍMBOLOS FECHADOS) E K_{DH} (SÍMBOLOS VAZADOS) PARA AS LINHAS DE AMARRAÇÃO DOS SISTEMAS COMPOSTOS POR DES + K_2HPO_4 + H_2O : (○) GLUCOSE, (△) FRUTOSE E (□) SACAROSE.....	63
FIGURA 14 – DIAGRAMA DE FASES A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA DOS SDFA COMPOSTOS POR PPG 400, H_2O E $[N_{111}(2OH)]Cl$: GLUCOSE A DIFERENTES RAZÕES MOLARES: (■) 2:1, (●) 1:1 E (▲) 1:2 E PARA OS SISTEMAS (◆) $[N_{111}(2OH)]Cl$ + PPG + H_2O E (▼) GLUCOSE + PPG + H_2O . AS CURVAS BINODAIS FORAM REPRESENTADAS EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE (A) $[N_{111}(2OH)]Cl$: GLUCOSE, (B) $[N_{111}(2OH)]Cl$ E (C) GLUCOSE.....	66
FIGURA 15 – RAZÃO MOLAR ENTRE O $[N_{111}(2OH)]Cl$ (RH) E A GLUCOSE (DH) NA MISTURA INICIAL (LINHA TRACEJADA) E NAS FASES DOS SISTEMAS: (■) 2:1; (●) 1:1 E (▲) 1:2.....	68
FIGURA 16 – REPRESENTAÇÃO PSEUDO-TERNÁRIA DOS DIAGRAMAS DE FASES DOS SISTEMAS $[N_{111}(2OH)]Cl$ + glucose + PPG + H_2O A 25 °C EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{111}(2OH)]Cl$: GLUCOSE. (●) CURVA BINODAL, (△) LINHAS DE AMARRAÇÃO, (▲) COMPOSIÇÃO GLOBAL E (○) PONTO CRÍTICO.....	69
FIGURA 17 - REPRESENTAÇÃO TRIDIMENSIONAL DOS SISTEMAS QUATERNÁRIOS $[N_{111}(2OH)]Cl$ + GLUCOSE + PPG 400 + H_2O A DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{111}(2OH)]Cl$: GLUCOSE: (●) 2:1, (●) 1:1 E (●) 1:2 E PARA OS SISTEMAS TERNÁRIOS (●) $[N_{111}(2OH)]Cl$ + PPG 400 + H_2O E (●) GLUCOSE + PPG 400 + H_2O	70
FIGURA 18 – RAZÃO MOLAR ENTRE O $[N_{111}(2OH)]Cl$ (RH) E UREIA (DH) NA MISTURA INICIAL (LINHA TRACEJADA) E NAS FASES DOS SDFA ESTUDADOS: (■) 2:1; (●) 1:1 E (▲) 1:2.....	72
FIGURA 19 – COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) NA FASE RICA EM $[N_{111}(2OH)]Cl$ PARA AS DIFERENTES BIOMOLÉCULAS AVALIADAS NO SISTEMA: $[N_{111}(2OH)]Cl$ + GLUCOSE + PPG 400 + H_2O A DIFERENTES RAZÕES MOLARES $[N_{111}(2OH)]Cl$: GLUCOSE: 2:1 (A), 1:1 (B) E 1:2 (C).	75
FIGURA 20 – COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) NA FASE RICA EM $[N_{111}(2OH)]Cl$ EM FUNÇÃO DO LOG (K_{ow}) DAS BIOMOLÉCULAS NO SISTEMA: $[N_{111}(2OH)]Cl$ + GLUCOSE + PPG 400 + H_2O A DIFERENTES RAZÕES MOLARES $[N_{111}(2OH)]Cl$: GLUCOSE: 2:1 (A), 1:1 (B) E 1:2 (C).....	75
FIGURA 21 – EFICIÊNCIA DA EXTRAÇÃO (EE %) NA FASE RICA EM $[N_{111}(2OH)]Cl$ PARA AS DIFERENTES BIOMOLÉCULAS NO SISTEMA: $[N_{111}(2OH)]Cl$ + GLUCOSE + PPG 400 + H_2O A DIFERENTES RAZÕES MOLARES $[N_{111}(2OH)]Cl$: GLUCOSE: 2:1 (A), 1:1 (B) E 1:2 (C).	76
FIGURA 22 – EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE GLUCOSE NO K E EE % DE DIFERENTES BIOMOLÉCULAS NA FASE RICA EM $[N_{111}(2OH)]Cl$ NOS SISTEMAS: (A) 14,5 % DES + 33,0 % de PPG; (B) 17,5 % DE DES + 37,0 % DE PPG E (C) 22,5 % DE DES + 45,0 % DE PPG.....	76

FIGURA 23 - DIAGRAMA DE FASES A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA DOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{111}(2OH)]Cl:OH$, K_2HPO_4 E H_2O PARA DIFERENTES ALCOOIS: ETANOL (A), PROPANOL (B), 1,2-PROPANODIOL (C) E ETILENO GLICOL (D) A DIFERENTES RAZÕES MOLARES – 2:1 (●) 1:1 (▲) E 1:2 (*) E PARA OS SISTEMAS TERNÁRIOS $OH + K_2HPO_4 + H_2O$ (◆) E n -PROPANOL + $[N_{111}(2OH)]Cl + H_2O$ (■)	80
FIGURA 24 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO EFEITO <i>Salting-out</i> EM SISTEMAS MULTIFÁSICOS	82
FIGURA 25 – DIAGRAMAS DE FASES DOS SISTEMAS TERNÁRIOS: $[N_{111}(2OH)]Cl / OH + K_2HPO_4 + H_2O$ A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. (○) CURVA BINODAL, (▲) COMPOSIÇÃO GLOBAL E (■) LINHAS DE AMARRAÇÃO.	84
FIGURA 26 – REPRESENTAÇÃO PSEUDO-TERNÁRIA DOS DIAGRAMAS DE FASES DOS SISTEMAS $[N_{111}(2OH)]Cl + ETANOL + K_2HPO_4 + H_2O$ A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $N_{111}(2OH)]Cl$: ETANOL: (A) 2:1; (B) 1:1 E (C) 1:2. (○)	84
FIGURA 27 – REPRESENTAÇÃO PSEUDO-TERNÁRIA DOS DIAGRAMAS DE FASES DOS SISTEMAS $[N_{111}(2OH)]Cl + 1,2$ -PROPANODIOL + $K_2HPO_4 + H_2O$ A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $N_{111}(2OH)]Cl$: ETANOL: (A) 2:1; (B) 1:1 E (C) 1:2. (○) CURVA BINODAL, (▲) COMPOSIÇÃO GLOBAL E (■) LINHAS DE AMARRAÇÃO.	85
FIGURA 28 – REPRESENTAÇÃO PSEUDO-TERNÁRIA DOS DIAGRAMAS DE FASES DOS SISTEMAS $[N_{111}(2OH)]Cl + 1,2$ -PROPANODIOL + $K_2HPO_4 + H_2O$ A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $N_{111}(2OH)]Cl$: ETANOL: (A) 2:1; (B) 1:1 E (C) 1:2. (○) CURVA BINODAL, (▲) COMPOSIÇÃO GLOBAL E (■) LINHAS DE AMARRAÇÃO.	85
FIGURA 29 - REPRESENTAÇÃO TRIDIMENSIONAL DOS SISTEMAS QUATERNÁRIOS $[N_{111}(2OH)]Cl + \text{ÁLCOOL} + K_2HPO_4 + H_2O$ A DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{111}(2OH)]Cl$: OH: (●) 2:1, (●) 1:1 E (●) 1:2 E PARA OS SISTEMAS TERNÁRIOS (●) $[N_{111}(2OH)]Cl + K_2HPO_4 + H_2O$, (●) ÁLCOOL + $K_2HPO_4 + H_2O$ E (●) n -PROPANOL + $[N_{111}(2OH)]Cl + H_2O$	86
FIGURA 30 - RAZÃO MOLAR ENTRE O $[N_{111}(2OH)]Cl$ (RH) E OS ÁLCOOIS (DH) NA MISTURA INICIAL (LINHA TRACEJADA) E NAS FASES DOS SISTEMAS ESTUDADOS EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES INICIAIS: (■) 2:1; (●) 1:1 E (▲) 1:2.	87
FIGURA 31 – COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) COMPOSTOS FENÓLICOS NA FASE DE TOPO DOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{111}(2OH)]Cl + \text{ÁLCOOL} (OH) + K_2HPO_4 + H_2O$ EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{111}(2OH)]Cl:OH$	90
FIGURA 32 - COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) DOS ALCALÓIDES NA FASE DE TOPO DOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{111}(2OH)]Cl + \text{ÁLCOOL} (OH) + K_2HPO_4 + H_2O$ EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{111}(2OH)]Cl:OH$	90

FIGURA 33 - COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) DOS AMINOÁCIDOS NA FASE DE TOPO DOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{111(2OH)}]Cl + \text{ÁLCOOL (OH)} + K_2HPO_4 + H_2O$ EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{111(2OH)}]Cl:OH$	91
FIGURA 34 – COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) NA FUNÇÃO DO $\log(K_{OW})$ DOS AMINOACIDOS AVALIADOS NOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{111(2OH)}]Cl$, K_2HPO_4 , H_2O E DIFERENTES ÁLCOOIS: (A) ETANOL, (B), 1,2-PROPANODIOL E (C) ETILENO GLICOL.	92
FIGURA 35 – SELETIVIDADE (S) SDFA COMPOSTOS POR $[N_{111(2OH)}]Cl$, K_2HPO_4 , H_2O E DIFERENTES ÁLCOOIS: (A) ETANOL, (B), 1,2-PROPANODIOL E (C) ETILENO GLICOL NA EXTRAÇÃO DE DIFERENTES BIOMOLÉCULAS	93
FIGURA 36 – COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) DA FASE DE TOPO DOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{111(2OH)}]Cl + n\text{-PROPANOL} + K_2HPO_4 + H_2O$ A DIFERENTES FRAÇÕES MOLARES DE $[N_{111(2OH)}]Cl: n\text{-PROPANOL}$	95
FIGURA 37 – EFICIÊNCIA NA EXTRAÇÃO DE BIOMOLECULAS (EE %) NAS TRÊS FASES DO SISTEMA CONSTITUÍDO POR $[N_{111(2OH)}]Cl: n\text{-PROPANOL}(1:1)$, K_2HPO_4 E H_2O : FASE DE FUNDO (CINZA), FASE INTERMEDIÁRIA (BRANCO) E FASE DE TOPO (PRETO)	96
FIGURA 38 - DIAGRAMA DE FASES A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA DOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{4444}]Cl: OH + C_6H_5K_3O_7 + H_2O$ A DIFERENTES VALORES DE pH: 5, 7 e 9 E DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $N_{4444}Cl$: ETANOL/ $n\text{-PROPANOL}$: 2:1 (●), 1:1 (■), 1:2 (▲) E PARA OS SISTEMAS TERNÁRIOS $[N_{4444}]Cl + C_6H_5K_3O_7 + H_2O$ (■) E ETANOL/ PROPANOL + $C_6H_5K_3O_7 + H_2O$ (◆)	99
FIGURA 39 - DIAGRAMA DE FASES A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA DO SDFA COMPOSTOS POR ETANOL + $C_6H_5K_3O_7 / C_6H_8O_7 + H_2O$ A DIFERENTES VALORES DE pH.	101
FIGURA 40 - REPRESENTAÇÃO PSEUDO-TERNÁRIA DOS DIAGRAMAS DE FASES DOS SISTEMAS $[N_{4444}]Cl + ETANOL/n\text{-PROPANOL} + C_6H_5K_3O_7 + H_2O$ A 25 °C, pH 9, E PRESSÃO ATMOSFÉRICA EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{4444}]Cl$: ETANOL: (A) 2:1; (B) 1:1 E (C) 1:2. (●) CURVA BINODAL, (■) COMPOSIÇÃO GLOBAL E (□) LINHAS DE AMARRAÇÃO.....	103
FIGURA 41 - REPRESENTAÇÃO PSEUDO-TERNÁRIA DOS DIAGRAMAS DE FASES DOS SISTEMAS $[N_{4444}]Cl + ETANOL/n\text{-PROPANOL} + C_6H_5K_3O_7 / C_6H_8O_7 + H_2O$ A 25 °C, pH 7, E PRESSÃO ATMOSFÉRICA EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{4444}]Cl$: ETANOL: (A) 2:1; (B) 1:1 E (C) 1:2. (●) CURVA BINODAL, (■) COMPOSIÇÃO GLOBAL E (□) LINHAS DE AMARRAÇÃO.	104
FIGURA 42 - REPRESENTAÇÃO PSEUDO-TERNÁRIA DOS DIAGRAMAS DE FASES DOS SISTEMAS $[N_{4444}]Cl + ETANOL/n\text{-PROPANOL} + C_6H_5K_3O_7 / C_6H_8O_7 + H_2O$ A 25 °C, pH 5, E PRESSÃO ATMOSFÉRICA EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{4444}]Cl$: ETANOL: (A) 2:1; (B) 1:1 E (C) 1:2. (●) CURVA BINODAL, (■) COMPOSIÇÃO GLOBAL E (□) LINHAS DE AMARRAÇÃO.	105

FIGURA 43 – RAZÃO MOLAR ENTRE O $[N_{4444}]Cl$ (RH) E ETANOL/ *n*-PROPANOL NA MISTURA INICIAL (LINHA TRACEJADA) E NAS FASES DOS SISTEMAS ESTUDADOS EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES INICIAIS: (■) 2:1; (●) 1:1 E (▲) 1:2. 106

FIGURA 44 - REPRESENTAÇÃO TRIDIMENSIONAL DOS SISTEMAS QUATERNÁRIOS $[N_{4444}]Cl + \text{ÁLCOOL} + C_6H_5K_3O_7 + H_2O$ A DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{4444}]Cl: OH$: (●) 2:1, (●) 1:1 E (●) 1:2 E PARA OS SISTEMAS TERNÁRIOS (●) $[N_{4444}]Cl + C_6H_5K_3O_7 + H_2O$, (●) ÁLCOOL + $C_6H_5K_3O_7 + H_2O$ 107

FIGURA 45 – COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) DA CAFEÍNA NA FASE DE TOPO DOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{4444}]Cl + ETANOL/ n$ -PROPANOL + $C_6H_5K_3O_7 + H_2O$ A DIFERENTES FRAÇÕES MOLARES DE $[N_{4444}]Cl:OH$ A pH 5 (CINZA ESCURO) E pH 9 (CINZA CLARO)..... 109

FIGURA 46 - COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) DO L-TRIPTOFANO NA FASE DE TOPO DOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{4444}]Cl + ETANOL/ n$ -PROPANOL + $C_6H_5K_3O_7 + H_2O$ A DIFERENTES FRAÇÕES MOLARES DE $[N_{4444}]Cl:OH$ A pH 5 (CINZA ESCURO) E pH 9 (CINZA CLARO)..... 110

FIGURA 47 – COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) DO ÁCIDO GÁLICO NA FASE DE TOPO DOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{4444}]Cl + ETANOL/ n$ -PROPANOL + $C_6H_5K_3O_7 + H_2O$ A DIFERENTES FRAÇÕES MOLARES DE $[N_{4444}]Cl:OH$ A pH 5 (CINZA ESCURO) E pH 9 (CINZA CLARO)..... 111

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – TIPOS DE SDFA E SUAS PRINCIPAIS VANTAGENS E DESVANTAGENS	23
TABELA 2 - DES APLICADOS A SDFA.....	32
TABELA 3 – DESCRIÇÃO DOS SDFA ESTUDADOS EM CADA CAPÍTULO DESTE TRABALHO	40
TABELA 4 - ESTRUTURA QUÍMICA, FONTE E PUREZA DOS REAGENTES UTILIZADOS.	42
TABELA 5 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS BIOMOLÉCULAS, LOG (K_{OW}) E pKa	43
TABELA 6 – CONCENTRAÇÃO DAS BIOMOLÉCULAS EM SOLUÇÃO E COMPRIMENTO DE ONDA (nm) UTILIZADO PARA QUANTIFICAÇÃO.....	50
TABELA 7 - DADOS EXPERIMENTAIS DE ELL PARA OS SDFA A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA, ONDE: (1) K_2HPO_4 ; (2) $[N_{(111(2OH))}Cl]$; (3) H_2O ; (4) DOADOR DE HIDROGÊNIO E (5) DES. ^a	56
TABELA 8 - RAZÃO MOLAR ENTRE RH $[N_{(111(2OH))}Cl]$ E DH (AÇÚCARES) NAS FASES RICA EM $[N_{(111(2OH))}Cl]$ E FASE RICA EM K_2HPO_4 PELAS ANÁLISES DE 1H RMN E TGA.	59
TABELA 9 – CONCENTRAÇÃO DOS ÍONS DE POTÁSSIO E FÓSFORO NAS FASES DE TOPO E FUNDO OBTIDA PELAS ANÁLISE DE TGA E ICP. ^a	60
TABELA 10 - PARÂMETROS DO MODELO NRTL PARA OS SDFA TERNÁRIO E QUATERNÁRIOS	61
TABELA 11 - DADOS EXPERIMENTAIS DE ELL PARA OS SDFA A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA, ONDE: (1) $[N_{(111(2OH))}Cl]$; (2) GLUCOSE; (3) PPG 400; (4) H_2O E (5) DES ($[N_{(111(2OH))}Cl]$: GLU) . ^a	67
TABELA 12 – PARÂMETROS DO MODELO NRTL PARA O SISTEMA QUATERNÁRIO $[N_{(111(2OH))}Cl]$ (1) + GLUCOSE (2) + PPG 400 (3) + H_2O (4) EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES $[N_{(111(2OH))}Cl]$: GLUCOSE.....	73
TABELA 13 – DADOS EXPERIMENTAIS DE ELL PARA OS SDFA A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA: (1) K_2HPO_4 ; (2) $[N_{(111(2OH))}Cl]$; (3) ÁLCOOL; (4) H_2O E (5) $[N_{(111(2OH))}Cl]:OH$ ^a	82
TABELA 14 – PARÂMETROS DO MODELO NRTL PARA OS SISTEMAS QUATERNÁRIO K_2HPO_4 + $[N_{(111(2OH))}Cl]$ + OH + H_2O A 25°C.....	88
TABELA 15 – DADOS EXPERIMENTAIS DE ELL PARA OS SDFA A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA: (1) $C_6H_5K_3O$; (2) $[N_{4444}]Cl$; (3) ÁLCOOL; (4) H_2O ^a . 102	
TABELA 16– PARÂMETROS DO MODELO NRTL PARA OS SISTEMAS QUATERNÁRIOS $C_6H_5K_3O$ + $[N_{4444}]Cl$ + OH + H_2O E $C_6H_5K_3O_7/C_6H_8O_7$ + $[N_{4444}]Cl$ + OH + H_2O A 25°C.....	108

LISTA DE ABREVIATURAS

CLA – comprimento da linha de amarração
DES – solventes eutéticos profundos (*Deep eutetic solvents*)
DH – doador de hidrogênio
DMSO – dimetilsulfoxido
DNS – ácido 3,5-dinitrosalicílico
ELL – equilíbrio líquido-líquido
ICP-AES – espectroscopia de emissão atômica por plasma por acoplamento indutivo
LA – linha de amarração
NRTL – *Non-Random Two-Liquid*
OH – álcool
PPG 400 – poli (propileno) glicol, massa molar 400 g mol⁻¹
RH – receptor de hidrogênio
RMSD – desvio quadrático médio (*root-mean-square-deviation*)
RMN – ressonância magnética nuclear
SDFA – sistema de duas fases aquosas
TGA – análise termogravimétrica
TMS - tetrametilsilano
UV-Vis – ultravioleta-visível
vdW – ligações de van der Waals

Lista de sais/ Fórmulas Químicas

[N_{111(2OH)}]Cl – cloreto de colina
[N₄₄₄₄]Cl – cloreto de tetrabutilamônio
K₂HPO₄ – fosfato de potássio dibásico
K₃C₆H₅O₇ – citrato de potássio tribásico/ K₃Citrato

C₆H₈O₇ – Ácido cítrico
H₂O – água

LISTA DE SÍMBOLOS

α – razão entre a massa da fase de topo e a massa total da mistura

A_{ij} – parâmetros de interação binária entre os componentes i e j

EE % - eficiência da extração

K – coeficiente de partição

$\log (K_{OW})$ – coeficiente de partição octanol/água

M – Composição da mistura inicial

M_M = massa molecular/ massa molar

pK_a – constante de dissociação ácida

R^2 – coeficiente de correlação

S – Seletividade

SUMÁRIO

PARTE I	18
CAPÍTULO 1 - Introdução, Revisão da Literatura e Estado da Arte	19
1.1. INTRODUÇÃO	19
1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
1.2.1. SISTEMAS DE DUAS FASES AQUOSAS (SDFA)	21
<i>1.2.1.1. Equilíbrio líquido-líquido e diagrama de fases</i>	24
<i>Modelo NRTL – Non-Randon Two-Liquid</i>	26
<i>Diagrama de fases</i>	27
1.3. SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS	28
1.4. SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS APLICADOS EM SDFA	31
CAPÍTULO 2 - Objetivos e Escopo	36
2.1. OBJETIVOS	36
2.2. ESCOPO DA TESE	37
CAPÍTULO 3 - Materiais e Métodos	41
3.1. MATERIAIS	41
3.2. PREPARO DOS SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDO (DES)	43
3.3. DETERMINAÇÃO DO DIAGRAMA DE FASES	44
<i>3.3.1. Curvas Binodais</i>	44
<i>3.3.2. Determinação das linhas de amarração</i>	44
<i>3.3.3. Sistemas ternários – Método gravimétrico</i>	45
<i>3.3.4. Sistemas Quaternários</i>	46
3.3.4.1. Método termogravimétrico	47
<i>Validação da Metodologia</i>	47
3.3.4.2. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	47
3.3.4.3. Técnicas analíticas para determinação de [N ₁₁₁ (2OH)]Cl, glucose e água	48
3.3.4.4. Análise de troca iônica (ICP-AES)	48
3.4. MODELAGEM TERMODINÂMICA – MODELO NRTL	49
3.5. PARTIÇÃO DE BIOMOLÉCULAS	50
PARTE II	52
CAPÍTULO 4 - Avaliação da estabilidade dos DES em SDFA	53
4.1. DADOS DE EQUILÍBRIO LÍQUIDO-LÍQUIDO	53
<i>4.1.1. Validação da Metodologia de TGA para determinação das linhas de amarração</i>	59
<i>4.1.2. Análise de troca iônica</i>	59
4.2. MODELAGEM TERMODINÂMICA	61

4.3.	PARTIÇÃO DE ÁCIDO GÁLICO	61
4.4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
CAPÍTULO 5 - Obtenção de SDFA ternários compostos por DES.....		65
5.1.	DADOS DE EQUILÍBRIO LÍQUIDO-LÍQUIDO.....	65
5.2.	MODELAGEM TERMODINÂMICA.....	72
5.3.	PARTIÇÃO DE BIOMOLÉCULAS	73
5.4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	78
CAPÍTULO 6 - DES aplicados a SDFA como “designer solvent”		79
6.1.	DADOS DE EQUILÍBRIO LÍQUIDO-LÍQUIDO	79
6.2.	MODELAGEM TERMODINÂMICA.....	88
6.3.	PARTIÇÃO DE BIOMOLÉCULAS	89
6.4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	97
CAPÍTULO 7 – Influência do pH em SDFA DES-SAL.....		98
7.1.	OBTENÇÃO DE DADOS DE EQUILÍBRIO LÍQUIDO-LÍQUIDO	98
7.2.	MODELAGEM TERMODINÂMICA.....	107
7.3.	PARTIÇÃO DE BIOMOLÉCULAS	109
7.4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	112
PARTE III.....		113
CAPÍTULO 8 – Conclusões e Produção Científica		114
8.1.	CONCLUSÕES	114
8.2.	DESAFIOS FUTUROS.....	116
8.3.	PRODUÇÃO CIENTÍFICA	117
CAPÍTULO 9 – Referências e Apêndices.....		120
REFERÊNCIAS		120
APÊNDICE A.....		129
APÊNDICE B.....		146
APÊNDICE C.....		147
APÊNDICE D.....		148
APÊNDICE E.....		150

PARTE I

Motivação, estado da arte, objetivos e descrição experimental

Nesta parte serão apresentados a motivação, uma breve revisão da literatura sobre o tema, o estado da arte atual, bem como os objetivos e escopo deste trabalho. Também serão apresentados todos os materiais utilizados para execução deste trabalho e a descrição dos métodos experimentais utilizados.

CAPÍTULO 1 - Introdução, Revisão da Literatura e Estado da Arte

1.1. Introdução

Os sistemas de duas fases aquosas (SDFA) são formados por soluções aquosas de pelo menos dois compostos diferentes, e foram originalmente propostos para extração e purificação de biomoléculas, como as proteínas. Os SDFA apresentam vantagens em relação aos sistemas de extração e purificação convencionais, visto que são formados primordialmente por água. Desta forma os SDFA são considerados sistemas biocompatíveis e não tóxicos. As fases dos SDFA são comumente formadas por soluções de dois polímeros, dois sais, ou ainda, por soluções de um polímero e um sal. Estes sistemas convencionais são amplamente explorados e aplicados na separação e/ou purificação dos mais diversos compostos. Entretanto, os SDFA convencionais, formados por polímero, principalmente por aqueles de alta massa molecular, podem apresentar alta viscosidade ou ainda formação de emulsões. Com objetivo de minimizar os efeitos negativos, e maximizar a eficiência na separação/purificação de moléculas, diversos compostos já foram propostos como substituintes dos componentes dos SDFA, geralmente do polímero. São exemplos de substituintes os solventes orgânicos, como os álcoois e a acetona, e os líquidos iônicos (LIs).

Os LIs aplicados a SDFA surgem devido à possibilidade de alterar a polaridade e afinidade das fases, em função da sua natureza química, resultando em sistemas de alta seletividade, baixa viscosidade e alta estabilidade química. Entretanto, são considerados de alto custo e até mesmo uma toxicidade relativa pode ser conferida a alguns tipos de LIs. Recentemente, uma nova gama de solventes que compartilham características físico-químicas com os LIs foi proposta, são os chamados solventes eutéticos profundos (DES, do inglês *deep eutectic solvents*).

Os DES são formados pela associação entre um receptor de hidrogênio, normalmente um sal quaternário de amônio, e qualquer outra molécula doadora de hidrogênio capaz de formar ligações de hidrogênio com o ânion disponível no sal quaternário de amônio. Uma das vantagens na utilização dos DES é resultante da sua similaridade em aspectos físico-químicos com os LIs, o que os torna atrativos para aplicação em SDFA, além de serem biodegradáveis, biocompatíveis, de baixo custo e fácil obtenção. Por outro lado, a alta viscosidade dos DES é um fator a ser considerado

na aplicação destes solventes em processos de extração. Esta viscosidade pode ser reduzida e controlada com a adição de água ao DES com o intuito de auxiliar na transferência de massa e favorecer a extração. Por outro lado, a adição de água deve ser realizada na proporção correta, pois em excesso pode enfraquecer ou até mesmo romper as ligações de hidrogênio formadoras dos DES. Apesar disso, devido ao grande número de compostos que podem ser utilizados em sua obtenção, os quais irão gerar solventes com propriedades distintas, os DES são considerados muito versáteis tornando atrativa a sua aplicação em processos diversos.

Estudos recentes propõem o uso dos DES em SDFA com a finalidade de se obter sistemas de baixa toxicidade, alta biodegradabilidade e baixo custo. Além disso, os SDFA em que os DES foram utilizados apresentaram altos índices de extração de biomoléculas, como as proteínas. Por outro lado, devido ao alto teor de água presente nos SDFA a estabilidade das ligações de hidrogênio do DES nesses sistemas é questionada, sendo que esses sistemas podem se tornar sistemas quaternários.

Entender o papel de cada componente do DES no SDFA é de fundamental importância para a utilização destes como *designer solvent* capaz de alterar as características do sistema. De maneira geral, o receptor de hidrogênio parece atuar como responsável pela formação do SDFA, enquanto que, o doador de hidrogênio altera as propriedades das fases em equilíbrio e consequentemente a extração/purificação de moléculas nesses sistemas. Desta forma, este trabalho tem por objetivo a obtenção e caracterização de SDFA formados por DES, para tanto, a obtenção de dados de equilíbrio líquido-líquido e um estudo sobre o comportamento dos compostos formadores dos DES no SDFA será realizado. Além disso, biomoléculas de diferentes classes serão utilizadas como moléculas modelo para avaliar o efeito de *designer solvent* dos DES-SDFA.

1.2. Revisão Bibliográfica

Nesta seção será apresentada uma breve revisão da literatura sobre os principais temas envolvidos neste trabalho: SDFA e DES.

1.2.1. Sistemas de duas fases aquosas (SDFA)

Os processos de separação, aplicados a extração, separação e purificação de diferentes compostos possuem várias etapas, um alto gasto energético e acabam por representar grande parte do custo do produto final (MARTÍNEZ-ARAGÓN; BURGHOFF; GOETHEER; DE HAAN, 2009). Dentre os diversos processos de separação existentes a extração líquido-líquido, ou extração por solvente, apresenta vantagens em relação aos demais processos de separação devido a sua biocompatibilidade e seletividade (MARTÍNEZ-ARAGÓN; BURGHOFF; GOETHEER; DE HAAN, 2009). Na indústria de alimentos, a extração líquido-líquido pode ser utilizada para purificação e/ou concentração de compostos de maior valor agregado ou até mesmo para a remoção de compostos indesejáveis (TADINI; TELIS; MEIRELLES; PESSOA FILHO, 2016).

Na década de 50 os sistemas de duas fases aquosas (SDFA) foram apresentados por Albertson com a principal finalidade de separar macromoléculas como as proteínas (ALBERTSSON, 1958). Em relação aos sistemas de extração líquido-líquido convencionais, os quais são formados em grande parte por solventes orgânicos, os SDFA apresentam vantagens por serem formados predominantemente por água, tornando-os biocompatíveis e não tóxicos (ALBERTSSON, 1958; ZASLAVSKY, 1995). As fases destes sistemas são tradicionalmente formadas por soluções aquosas de dois polímeros, dois sais ou ainda um polímero e um sal, onde as interações intermoleculares entre os constituintes dos sistemas comandam a formação das duas fases. As interações entre os componentes formadores do sistema serão responsáveis por todas as propriedades físico-químicas das fases em equilíbrio (DA SILVA; LOH, 2000; ZASLAVSKY, 1995). A formação das duas fases pode ser explicada em função da entalpia de hidratação e da entropia do sistema. Apesar de ambos os componentes apresentarem afinidade com a água a entalpia de hidratação destes são diferentes entre si, tornando possível a existência de dois cenários termodinâmicos diferentes. Se a energia do sistema é superior à diferença entre a entalpia de hidratação e a entropia dos componentes do sistema, estes podem coexistir em uma única fase. Entretanto, caso a energia do sistema seja menor a separação

dos constituintes se torna favorável e formam-se as duas fases em equilíbrio (BENAVIDES; RITO-PALOMARES; ASENJO, 2011). Desta forma, a separação das fases nos SDFA é resultante da capacidade de cada componente individual em formar complexos de hidratação com a água do sistema, sendo esse processo influenciado por inúmeras variáveis como: concentração, tipo e a massa molar do polímero e do sal, pH e temperatura do sistema (ALBERTSSON; CAJARVILLE; BROOKS; TJERNELD, 1987; ROGERS; BOND; BAUER; et al., 1996).

O polímero mais utilizado na obtenção dos SDFA é o polietileno glicol (PEG), em função da sua alta solubilidade em água e solventes orgânicos, além da sua disponibilidade em diferentes massas molares. Com relação ao sal, a sua escolha obedece à série de Hofmeister (GRABER; MEDINA; GALLEGUILLOS; TABOADA, 2007; ZSLAVSKY, 1995). A série de Hofmeister, exemplificada na FIGURA 1, foi inicialmente proposta para classificar os sais de acordo com sua capacidade em estabilizar (efeito cosmotrópico ou *salting-out*) ou desestabilizar (efeito caotrópico ou *salting-in*) moléculas como as proteínas. De maneira geral o efeito *salting-out* corresponde a capacidade de uma solução salina em excluir determinado componente da fase aquosa. Aplicada a sistemas de duas fases aquosas a série de Hofmeister pode ser relacionada a capacidade do sal em formar um sistema bifásico. Desta forma, o uso de sais de maior efeito cosmotrópico resulta em maior capacidade de formar SDFA e maior *salting-out*. Sabe-se ainda, que os ânions apresentam maior contribuição do que os cátions na eficácia do sal na separação das fases. Ânions multivalentes como HPO_4^{2-} e SO_4^{2-} , por exemplo, são os mais efetivos na indução de separação de fases, mesmo em baixas concentrações em sistemas utilizando PEG, sendo preferível a utilização de ânions cosmotrópicos para obtenção dos SDFA (CACACE; LANDAU; RAMSDEN, 1997; HOFMEISTER, 1888; HUDDLESTON; VEIDE; KÖHLER; et al., 1991; LO NOSTRO; NINHAM, 2012).

FIGURA 1 – SÉRIE DE HOFMEISTER

SÉRIE DE HOFMEISTER										
Efeito Cosmotrópico		Estabilizante (Salting-out)			Desestabilizante (Salting-in)			Efeito Caotrópico		
←								→		
Ânions	F^-	PO_4^{3-}	SO_4^{2-}	CH_3COO^-	Cl^-	Br^-	I^-	CNS^-		
Cátions	$(\text{CH}_3)_4\text{N}^+$	$(\text{CH}_3)_2\text{NH}^+$	NH_4^+	K^+	Na^+	Cs^+	Li^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Ba^{2+}

Fonte: Adaptado de Cacace, Landai e Ramsden (1997).

Os SDFA convencionais (polímero-sal), embora muito aplicados, acabam por apresentar algumas desvantagens, como a formação de emulsões e sistemas de alta

viscosidade resultantes da utilização de PEG de alta massa molecular. Com a finalidade de melhorar as características dos sistemas e aumentar a eficiência da extração diversas moléculas já foram propostas como substituintes principalmente aos formadores de fase convencionais (polímero ou sal). Alguns exemplos destes substituintes são os solventes orgânicos, como a acetona e álcoois (LU; HAO; HU; et al., 2013; MARCILLA; RUIZ; GARCÍA, 1995; SANGLARD; FARIAS; SOSA; et al., 2018), os líquidos iônicos (LI) (FREIRE; CLÁUDIO; ARAÚJO; et al., 2012; SAMPAIO; SOSA; MARTINS; et al., 2016; SHUKLA; PANDEY; PANDEY, 2018) e mais recentemente os solventes eutéticos profundos (DES) (ZENG; WANG; HUANG; et al., 2014), entre outros. As principais vantagens e desvantagens de diferentes tipos de SDFA podem ser observadas na TABELA 1. Os sistemas compostos por DES serão abordados de maneira individual no decorrer do trabalho.

TABELA 1 –TIPOS DE SDFA E SUAS PRINCIPAIS VANTAGENS E DESVANTAGENS

SDFA	Vantagens	Desvantagens
Polímero-polímero	Ampla Aplicação.	Alta viscosidade.
Polímero-sal	Curto tempo de separação; Ampla faixa de pH.	Alta força iônica do sal na fase rica em sal. Baixa imiscibilidade em função da similaridade de polaridade de alguns polímeros com os sais.
Álcool-sal	Baixo custo e fácil recuperação/ reutilização de seus constituintes; Baixa viscosidade; Rápida formação de fases.	Incompatibilidade de algumas biomoléculas com a fase rica em álcool (exemplo: proteínas); Alta volatilidade do álcool.
Carboidratos-Polímero/ LIs	Ambientalmente seguros; SDFA obtido na ausência de sal; Os carboidratos são obtidos de fontes renováveis e não são tóxicos.	A formação do sistema de duas fases aquosas é dependente da solubilidade do carboidrato.
LIs-sal/polímero	Capacidade de manipular a separação de solutos com base na natureza química do LI; Alta seletividade; Polaridade relativa em função da estrutura dos íons que foram o SDFA; Alta imiscibilidade resultante da grande variação de polaridade dos LIs.	Alguns líquidos iônicos podem apresentar alto custo e baixa biodegradabilidade. LIs compostos por imidazólio podem comprometer a atividade biológica de algumas moléculas.
DES-sal/polímero	Versatilidade; Os componentes dos DES atuam alterando as características das fases dos sistemas guiando os processos de partição de biomoléculas: “ <i>designer solvent</i> ”.	Quebras das ligações de hidrogênio dos DES; Em alguns casos pode ocorrer a partição não estequiométrica dos constituintes dos DES entre as fases do sistema.
Micelar	Alta seletividade na separação e purificação de biomoléculas; Baixa massa molecular de seus constituintes; Os surfactantes termo sensíveis podem ser reciclados .	Alto Custo

Fonte: Benavides, Rito-Palomares e Asenjo (2011), Freire, Cláudio e Araújo (2012), Shukla, Pandey e Pandey (2018), A Autora (2018).

Os SDFA são considerados sistemas de alta sensibilidade, o que ressalta a sua aplicabilidade na separação e fracionamento de biomoléculas presentes nas células, organelas e membranas. Normalmente estas biomoléculas são solúveis em ambas as fases do sistema o que permite sua separação em concentrações relativamente altas (JOHANSSON, 1994). O mecanismo de separação das biomoléculas nos sistemas aquosos normalmente é conduzido por mecanismos complexos, comandados principalmente por interações soluto-solvente, como van der Waals (vdW), ligações de hidrogênio e forças eletrostáticas, além de sofrer influência dos efeitos estéricos e conformacionais das moléculas (FREIRE; CLÁUDIO; ARAÚJO; et al., 2012). A partição de uma molécula alvo é, portanto, dependente das propriedades da molécula e das características das fases. Sendo assim, alguns procedimentos podem ser adotados para manipular a partição, tais como: controlar a afinidade do soluto para uma das fases utilizando diferentes sais/ íons; provocar alterações na composição das fases manipulando a concentração dos componentes que compõe o SDFA; inserir co-solventes, anti-solventes ou até mesmo estruturas anfífilas ao sistema (FREIRE; CLÁUDIO; ARAÚJO; et al., 2012; VENTURA; NEVES; FREIRE; et al., 2009).

Na partição de biomoléculas em SDFA, o termo coeficiente de partição (K) é frequentemente utilizado e corresponde ao resultado da relação entre concentração da biomolécula nas fases do sistema conforme a Equação 1:

$$K = \frac{[Biomolécula]_{fase\ 1}}{[Biomolécula]_{fase\ 2}} \quad (1)$$

A alta biocompatibilidade dos SDFA na partição de biomoléculas ocorre em função da alta concentração de água em ambas as fases envolvidas na separação, preservando a biomolécula da desnaturação ou qualquer outra interação que possa afetar a sua integridade como muitas vezes ocorre em separações envolvendo solventes orgânicos (ASENJO; ANDREWS, 2012; CUNHA; AZNAR, 2009; FREIRE; CLÁUDIO; ARAÚJO; et al., 2012).

1.2.1.1. Equilíbrio líquido-líquido e diagrama de fases

Termodinamicamente são consideradas características de um sistema em equilíbrio: invariabilidade de suas propriedades com o tempo, uniformidade do sistema

(ausência de gradientes de temperatura, concentração, etc.), todos os fluxos (calor, massa e trabalho) entre o sistema e a vizinhança são iguais à zero assim como a taxa líquida de todas as reações químicas (CABEZAS, 1996; SANDLER, 2006). São critérios para o equilíbrio líquido-líquido (ELL) a uniformidade da temperatura (T), pressão (P) e fugacidade (\hat{f}_i) de cada espécie química nas fases. Desta forma, para um ELL de um sistema com N espécies a T e P uniformes, sendo as fases descritas pelos sobrescritos α e β , os critérios de equilíbrio são descritos como:

$$\hat{f}_i^\alpha = \hat{f}_i^\beta \quad (i = 1, 2, \dots, N) \quad (2)$$

Com introdução dos coeficientes de atividade a equação se torna:

$$x_i^\alpha \gamma_i^\alpha \hat{f}_i^\alpha = x_i^\beta \gamma_i^\beta \hat{f}_i^\beta \quad (3)$$

Para cada espécie pura que existe como líquido na temperatura do sistema, $\hat{f}_i^\alpha = \hat{f}_i^\beta = \hat{f}_i$, assim:

$$x_i^\alpha \gamma_i^\alpha = x_i^\beta \gamma_i^\beta \quad (i = 1, 2, \dots, N) \quad (4)$$

Na equação 4, os coeficientes de atividade γ_i^α e γ_i^β vêm da mesma função G^E/RT desta forma, são funcionalmente idênticos, distinguidos matematicamente somente pelas frações molares das quais eles são funções. Sendo assim, para um sistema líquido-líquido contendo N espécies químicas:

$$\gamma_i^\alpha = \gamma_i(x_1^\alpha, x_2^\alpha, \dots, x_{N-1}^\alpha, T, P) \quad (5)$$

$$\gamma_i^\beta = \gamma_i(x_1^\beta, x_2^\beta, \dots, x_{N-1}^\beta, T, P) \quad (6)$$

Na obtenção dos coeficientes de atividade é necessária a construção de expressões nas quais se obtém G^E (energia livre de Gibbs em excesso) como função resultante da composição, temperatura e pressão do sistema (SMITH; VAN NESS; ABBOT, 2007). As funções de G^E são expressas por expansões algébricas nas quais seus

parâmetros são obtidos por meio do ajuste a dados experimentais, para tanto se utilizam modelos clássicos baseados na teoria da composição local.

Modelo NRTL – Non-Random Two-Liquid

Os modelos de energia livre de Gibbs em excesso (G^E) são utilizados para a determinação do coeficiente de atividade (γ_i) de soluções. Esses modelos se baseiam na teoria da composição local, ou seja, na hipótese de que a composição do sistema nas vizinhanças de uma determinada molécula não é igual à composição da mistura em função da diferença no tamanho e da energia de interação da molécula (SANDLER, 2006).

O modelo NRTL (do inglês *Non-Random Two-Liquid*), foi desenvolvido por Renon e Prausnitz (1968), e é fundamentado na teoria de Wilson (1964), com relação as moléculas em uma composição local, no entanto, é aplicada sobre essa teoria a não aleatoriedade da mistura (RENON; PRAUSNITZ, 1968; WILSON, 1964). Em sua forma geral, o modelo NRTL pode ser representado pela seguinte equação:

$$\frac{g^E}{RT} = \sum_i x_i \frac{\sum_j \tau_{ji} G_{ji} x_j}{\sum_l G_{li} x_l} \quad (7)$$

Onde, G_{li} e G_{ji} são parâmetros de interação energética entre as moléculas i e j e o parâmetro α_{ij} está relacionado com o grau de não-randomicidade da mistura i - j e caracteriza a tendência da espécie i e espécie j serem distribuídas de forma não-aleatória, sendo esses obtidos através das equações (8) e (9), respectivamente.

$$\tau_{ji} = \frac{g_{ji} - g_{ii}}{RT} \quad (8)$$

$$G_{ji} = e^{-\alpha_{ji} \tau_{ji}} \quad (\alpha_{ji} = \alpha_{ij}) \quad (9)$$

Para o modelo de NTRL a equação (Equação 10) que determina o coeficiente de atividade está descrita a seguir:

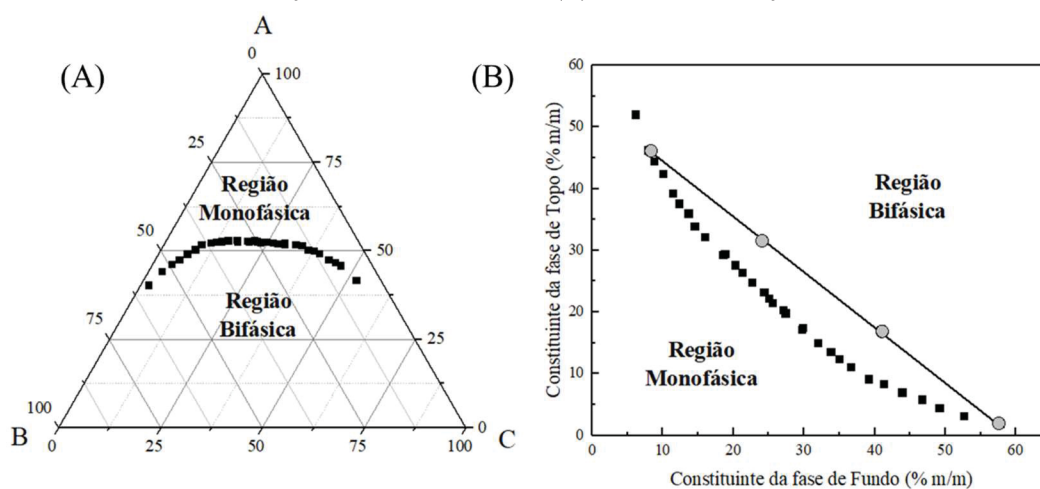
$$\ln \gamma_i = \frac{\sum_j \tau_{ji} G_{ji} x_j}{\sum_l G_{li} x_l} + \sum_j \frac{x_j G_{ij}}{\sum_l G_{lj} x_l} \quad (10)$$

Diagrama de fases

A obtenção de diagramas de fases para os sistemas ternários tem como objetivo prever o volume e a composição das duas fases e do sistema como um todo (ALBERTSSON; TJERNELD, 1994; ASENJO; ANDREWS, 2011). Estes diagramas podem ser representados na forma triangular ou na sua forma binária, FIGURA 2A e 2B, respectivamente.

Na Figura 2B a linha corresponde as chamadas linhas de amarração (LA) as quais são utilizadas para expressar o efeito da composição do sistema na separação das fases além de descrever o equilíbrio termodinâmico entre elas. O comprimento da linha de amarração (CLA) corresponde a um valor particular para cada sistema. Linhas de amarração de maior comprimento são resultantes de maiores diferenças na composição das fases de topo e fundo, sendo de interesse para aplicação na partição de solutos. Embora todos os SDFA dentro da mesma linha de amarração tenham composição de fase idênticas, a sua proporção em volume (V_R) muda de acordo com a composição global do sistema, sendo V_R obtido pela fração do volume da fase de topo em função do volume da fase de fundo (BENAVIDES; RITO-PALOMARES; ASENJO, 2011; KAUL, 2000).

FIGURA 2 – DIAGRAMA DE FASES DE UMA MISTURA A + B + H₂O (C), ONDE: (A) REPRESENTAÇÃO TRIANGULAR E (B) REPRESENTAÇÃO BINÁRIA.



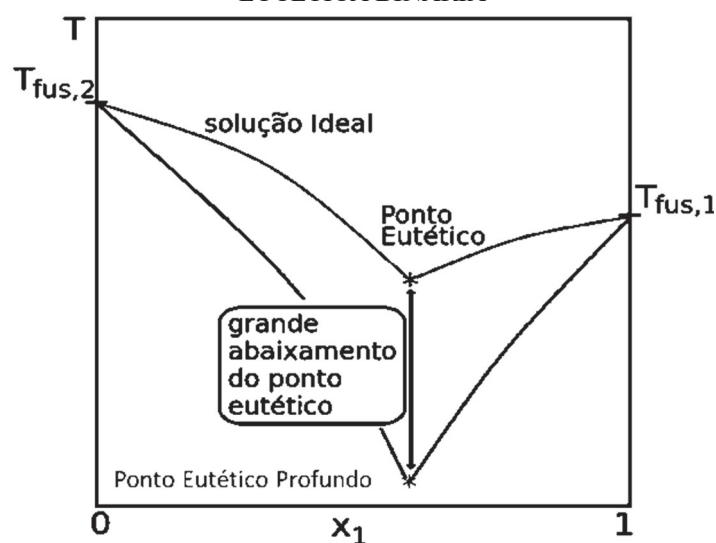
Fonte: A Autora (2018).

A caracterização completa do diagrama de fases é de extrema importância para a compreensão das variáveis do sistema que irão orientar a separação dos componentes através destes sistemas de duas fases, sendo capaz de mostrar o perfil único de cada sistema em determinadas condições (KAUL, 2000; WILLAUER; HUDDLESTON; ROGERS, 2002).

1.3. Solventes eutéticos profundos

Uma mistura eutética é definida como a associação de dois ou mais compostos de através de ligações de hidrogênio que resulta em significativa redução do ponto de fusão, onde a mistura irá apresentar ponto de fusão inferior a qualquer um dos seus componentes individuais como apresentado na FIGURA 3 (DURAND; LECOMTE; VILLENEUVE, 2015).

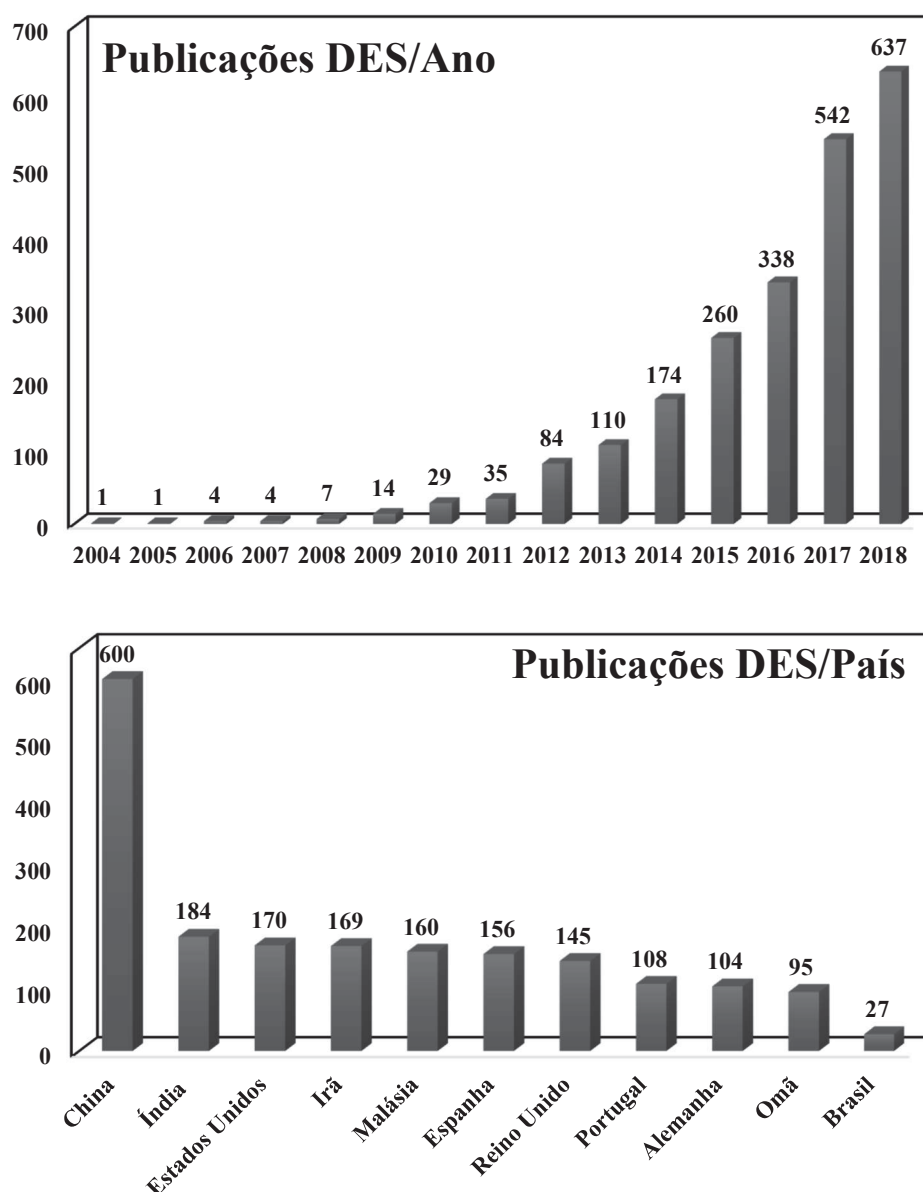
FIGURA 3 - ESQUEMA DE DIAGRAMA DE FASE SÓLIDO-LÍQUIDO PARA UMA MISTURA EUTÉTICA BINÁRIA



Fonte: A Autora (2018)

O termo solventes eutéticos profundos, ou DES (do inglês *deep eutectic solvents*), foi reportado na literatura pela primeira vez em 2003 por Abbott e colaboradores, para designar a associação de moléculas receptoras de hidrogênio, principalmente sais quaternários de amônio, através de ligações de hidrogênio com diferentes moléculas como ácidos, álcoois, sais metálicos ou quaisquer outras moléculas capazes de formar complexo com o ânion disponível no sal quaternário (ABBOTT; CAPPER; DAVIES; et al., 2003; GARCIA; APARICIO; ULLAH; ATILHAN, 2015; WAGLE; ZHAO; BAKER, 2014). Desde então os DES se tornaram de grande interesse para a comunidade científica, como pode ser observado a partir do crescimento do número de publicações envolvendo os DES entre os anos de 2004 e 2018, FIGURA 4.

FIGURA 4 – NÚMERO DE ARTIGOS POR ANO/ PAÍS ENVOLVENDO DES ENTRE OS ANOS DE 2004 E 2018.



Fonte: Scopus Database (Dezembro de 2018)

Dentre os compostos formadores dos DES, o cloreto de colina ($[N_{111}(2OH)]Cl$) é um dos sais quaternários de amônio mais utilizados, o qual pode ser extraído de biomassas ou sintetizado por meio de reservas fósseis, sendo considerado de baixo custo, biodegradável e não tóxico (ABBOTT; CAPPER; DAVIES; et al., 2003; RADOŠEVIĆ; CVJETKO BUBALO; GAURINA SRČEK; et al., 2015). Estes sais quaternários devem ter a capacidade de formar complexos com diferentes moléculas doadoras de hidrogênio (DH). Moléculas como a ureia, glicerol, polióis, derivados de carboidratos ou ácidos carboxílicos são exemplos do grande número de doadores de hidrogênio que podem ser

utilizados na obtenção dos DES. Desta forma os DES são considerados de fácil preparo, baixo custo e biodegradáveis (ABBOTT; BOOTHBY; CAPPER; et al., 2004; HAYYAN; ZHANG; DE OLIVEIRA VIGIER; ROYER; JÉRÔME, 2012; MJALLI; ALNASHEF; et al., 2013; ESPINO; DE LOS ÁNGELES FERNÁNDEZ; GOMEZ; SILVA, 2016; TOMÉ; BAIÃO; DA SILVA; BRETT, 2018).

Mais recentemente Coutinho e colaboradores (2018) esclareceram que a definição dos DES não pode ser generalizada, pois estes não são compostos novos ou compostos pseudo-puros, e sim que esses devem ser considerados misturas evitando quaisquer definições equivocadas. Estes autores reforçam ainda que as características conferidas aos DES de solventes verdes, econômicos e de fácil obtenção são dependentes dos compostos utilizados para sua obtenção (MARTINS; PINHO; COUTINHO, 2018).

As características e propriedades físicas dos DES são diretamente dependentes da natureza química e da proporção com que doador e receptor de hidrogênio são adicionados na mistura. De maneira geral, os DES apresentam densidade superior à da água e de seus componentes puros e alta viscosidade devido principalmente às ligações de hidrogênio, mas também em função de forças eletrostáticas e vdW que os formam. Estas características conferem ao DES baixa condutividade iônica e baixa tensão superficial, afetando diretamente o transporte de cargas nessas misturas (ABBOTT; BOOTHBY; CAPPER; et al., 2004; ZHANG; DE OLIVEIRA VIGIER; ROYER; JÉRÔME, 2012). Desta forma, a viscosidade das misturas eutéticas acaba por ser tornar uma das maiores dificuldades na utilização destes solventes em processos de extração e purificação, por exemplo. A viscosidade dos DES, porém apresenta mudanças significativas com o aumento da temperatura e adição de água. A adição de água na proporção correta auxilia na redução da viscosidade dos DES, facilitando a transferência de massa sem, no entanto, afetar a sua eficiência da extração. Há registros na literatura que descrevem, inclusive, o aumento da eficiência de extração com a adição de água (BI; TIAN; ROW, 2013; GARCIA; APARICIO; ULLAH; ATILHAN, 2015). Isso ocorre, pois, a adição de água aos DES enfraquece as ligações de hidrogênio que os formam reduzindo a sua viscosidade. Entretanto, estas interações podem ser rompidas e até mesmo desaparecerem em concentrações de água superiores a 25 % (v/v) (DAI; WITKAMP; VERPOORTE; CHOI, 2015).

Uma das grandes vantagens conferidas aos DES é sua similaridade com os LIs, como baixa volatilidade e alta estabilidade térmica, dentre outros aspectos físico-químicos. Porém ao contrário dos LIs conhecidos, os quais são formados unicamente por

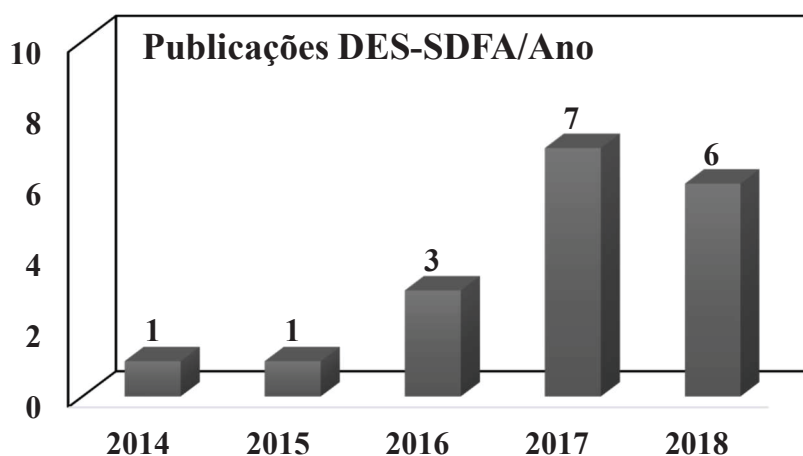
ligações iônicas e são considerados compostos puros, os DES são resultado de interações entre doador e receptor de hidrogênio principalmente através de ligações de hidrogênio. (ABBOTT; BOOTHBY; CAPPER; et al., 2004; DURAND; LECOMTE; VILLENEUVE, 2013; MARTINS; PINHO; COUTINHO, 2018; TOMÉ; BAIÃO; DA SILVA; BRETT, 2018).

Em razão de suas características, os DES possuem ampla aplicação em processos de dissolução, separação e concentração de moléculas como fármacos, constituintes de alimentos, e biomoléculas como os compostos fenólicos e proteínas. Os DES também são utilizados na purificação de biodiesel, catálise de reações, como meio de preparação de materiais entre as mais diversas aplicações (GARCÍA; RODRÍGUEZ-JUAN; RODRÍGUEZ-GUTIÉRREZ; et al., 2015; HAYYAN; MJALLI; ALNASHEF; et al., 2013; MONDAL; MAHTO; VEERABABU; et al., 2015; TOMÉ; BAIÃO; DA SILVA; BRETT, 2018; ZHANG; DE OLIVEIRA VIGIER; ROYER; JÉRÔME, 2012).

1.4. Solventes eutéticos profundos aplicados em SDFA

A aplicação de solventes eutéticos profundos em SDFA é recente e pouco abordada na literatura atual, como demonstrado na FIGURA 5. Uma breve descrição dos trabalhos/ sistemas avaliados na literatura atual, em ordem cronológica, pode ser encontrada na TABELA 2.

FIGURA 5 - NÚMERO DE ARTIGOS POR ANO ENVOLVENDO DES APLICADOS A SDFA ENTRE OS ANOS DE 2014 E 2018.



Fonte: Scopus Database (Dezembro de 2018)

TABELA 2 - DES APLICADOS A SDFA

Receptor de hidrogênio	Doador de hidrogênio	Sal/ Polímero	Dados de ELL	Partição	Referência
Cloreto de Colina Cloreto de tetrabutilamônio Brometo de tetrapropilamônio	Ureia Metilureia	K ₂ HPO ₄	Não fornecidos	BSA Ovolbumina Tripsina	Zeng, Wang e Huang, et al. (2014)
Cloreto de colina	Etileno glicol Glicerol Glicose Sorbitol	K ₂ HPO ₄	Curvas binodais	BSA	Xu, Wang e Huang, et al. (2015)
Cloreto de tetrametilamonio	Ureia Etileno glicol Sorbitol Glucose Glicerol	K ₂ HPO ₄	Curvas binodais	BSA Lisozima	Zhang, Wang e Xu, et al. (2016)
Betaína	Ureia Metilureia Etileno glicol Glicerol Glicose Sorbitol	K ₂ HPO ₄	Curvas binodais	BSA Ovolbumina Tripsina	Li, Wang e Xu, et al. (2016)
Cloreto de Colina	Ureia Ác. Acético Ác. Glicólico Ác. Láctico Ác. Cítrico	PPG 400	Curvas Binodais	Sudan III PB-29	Passos, Tavares, Ferreira, et al. (2016)
Cloreto de tetrabutilamônio Brometo de tetrabutilamônio Cloreto de tetraetilamônio Brometo de tetraetilamônio	PEG 200 PEG 400 PEG 600 PEG 1000	Na ₂ CO ₃	Curvas binodais	RNA	Zhang, Wang e Zhou et al. (2017)
Cloreto de Colina	PEG 2000	NaH ₂ PO ₄ Na ₂ CO ₃ Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇	Curvas Binodais	BSA Papaína	Pang, Sha e Chao et al. (2017)
Brometo de tetrabutil amônio	PPG 400	Na ₂ CO ₃ ; Na ₂ SO ₄ Glicina Betaína Cloreto de Colina Sucrose Sorbitol Glucose Cloreto de tetrametilamônio Brometo de tetrametilamônio Brometo de tetraetilamônio	Curvas Binodais	Sudan III Amarelo Crepúsculo Amaranto	Zhang, Wang, Zhou et al. (2018)

TABELA 2 - CONTINUAÇÃO

Cloreto de Colina	Ureia Etileno glicol 1,2-propanodiol	PPG 400	Curvas Binodais	**	Baghlani e Sadeghi (2018)
Brometo de tetrabutylamônio Betaína	PPG 400 Glucose Sacarose Sorbitol Xilitol	Líquido Iônico	Não fornecidos	DNA	Xu, Wang, Chen et al. (2018)
Cloreto de colina Betaína	Ureia Ácido Lático Sorbitol Glicerol Ureia Glucose	K ₃ PO ₄	Curvas binodais	Extração enantiosseletiva de fenilalanina	Sun, Wang, Li et al. (2018)

Fonte: A Autora (2018)

Zeng e colaboradores (2014) foram os primeiros autores a propor a aplicação dos DES em SDFA. Para estes autores, a aplicabilidade do DES nestes sistemas se dá pela sua similaridade com os LIs, a qual pode ser vantajosa pelo processo relativamente simples de obtenção destes solventes. Nesse trabalho quatro diferentes DES (descritos na TABELA 2) foram aplicados na obtenção de SDFA com o sal K₂HPO₄. Não foi realizada a obtenção de dados de equilíbrio líquido-líquido e o trabalho teve como foco principal avaliar a extração de três proteínas (BSA, ovoalbumina e tripsina) nos sistemas. O ensaio realizado com a albumina do soro bovino (BSA) no DES cloreto de colina: ureia apresentou a maior eficiência de extração dentre todos os ensaios e o qual teve suas condições otimizadas através de um experimento ortogonal atingindo eficiência de extração superior a 99,9 % (ZENG; WANG; HUANG; et al., 2014).

A partir dos resultados promissores obtidos no trabalho de Zeng e colaboradores (2014) o mesmo grupo de pesquisa avançou em outros trabalhos tendo sempre como foco principal avaliar a partição de proteínas diversas (LI; WANG; XU; et al., 2016; XU; WANG; HUANG; et al., 2015; ZHANG; WANG; XU; et al., 2016; ZHANG; WANG; ZHOU; et al., 2017). Esses autores acreditam que a formação de fase dos sistemas DES-sal está diretamente ligada a afinidade do DES com a água, ou seja, quanto menor essa afinidade menor a quantidade de sal requerida para a obtenção de um SDFA. Desta forma, os autores sugerem que nesses sistemas ocorre uma competição entre o DES e o sal pela água do sistema, onde o sal possui uma alta afinidade pela água do sistema resultando em uma fase rica em DES e outra fase rica em sal e água. Todos os sistemas avaliados apresentaram altos índices de extração de proteínas sendo de potencial utilização para partição de diferentes biomoléculas.

Pang e colaboradores (2017) avaliaram o uso do polímero PEG na síntese de DES a serem aplicados em SDFA. Os DES compostos por PEG 2000 e cloreto de colina apresentaram capacidade de formar fases com diferentes sais de sódio e o sistema DES- Na_2CO_3 foi escolhido para ser aplicado em processos de separação, resultando em altos índices de extração das proteínas BSA e papaína. Os autores defendem que os sistemas avaliados não resultaram em nenhum tipo de degeneração das proteínas avaliadas em razão das características dos DES escolhidos, ou seja, serem biodegradáveis e não possuírem qualquer tipo de reação com a proteína (PANG; SHA; CHAO; et al., 2017).

O polímero poli(propileno)glicol (PPG) foi utilizado na obtenção de DES hidrofóbico com o sal brometo de tetrabutilamônio. A habilidade deste DES em formar SDFA com diferentes sais foi avaliada, e estes sistemas se mostraram capazes de particionar seletivamente diferentes corantes industriais (ZHANG; WANG; ZHOU; et al., 2018).

O trabalho de Xu e colaboradores (2018) reportou pela primeira vez SDFA compostos por DES e LI e aplicou esses sistemas para a partição de DNA (XU; WANG; CHEN; et al., 2018). Enquanto Sun e colaboradores (2018) propuseram o uso de sistemas DES-sal para extração enantiosseletiva de fenilalanina (SUN; WANG; LI; et al., 2018).

Além das aplicações convencionais o uso de DES-SDFA também pode ocorrer integrada à outras técnicas como a extração por cavitação de pressão negativa (WANG; XU; WANG; et al., 2017), ou ainda acoplado a cromatografia líquida de alta eficiência (LI; ZHAO; LIU; et al., 2018).

Baghlani e Sadeghi (2018), por sua vez, obtiveram dados de equilíbrio líquido-vapor e líquido-líquido para três diferentes DES na ausência e presença de diferentes polímeros (PPG e PEG) os autores afirmaram que apenas o PPG é capaz de formar SDFA com os DES e que a formação de ABS pareceu ser controlada pela competição entre os complexos de hidratação e as ligações de hidrogênio a qual depende da estrutura do polímero e do DES (BAGHLANI; SADEGHI, 2018).

A bibliografia aqui apresentada mostra principalmente a potencial aplicação dos SDFA com base em DES na extração de biomoléculas. Entretanto, nos trabalhos citados nenhuma referência a respeito da estabilidade dos DES aplicados em SDFA foi realizada. O alto teor de água nesses sistemas, deve ser considerado, pois pode levar ao enfraquecimento ou até mesmo quebrar as ligações de hidrogênio formadoras dos DES (DAI; WITKAMP; VERPOORTE; CHOI, 2015).

Neste contexto, em 2016, Passos e colaboradores foram os primeiros a avaliar a estabilidade dos DES quando aplicados a SDFA. Nesse trabalho, diferentes DES compostos por cloreto de colina ($[N_{111}(2OH)]Cl$) e ácidos orgânicos foram aplicados na obtenção de SDFA com PPG 400. Os autores utilizaram a técnica de ressonância magnética nuclear (1H RMN) para avaliar a distribuição dos compostos formadores dos DES entre as fases. Verificou-se que a estequiometria inicial entre as moléculas receptora e doadora de hidrogênio do DES não se manteve nas fases dos sistemas. Desta forma, as moléculas doadoras de hidrogênio (ácidos orgânicos) foram preferencialmente particionadas para a fase rica em PPG, enquanto que o receptor de hidrogênio ($[N_{111}(2OH)]Cl$) se particionou preferencialmente para a outra fase. Nesses sistemas a separação de fase foi governada pelo efeito *salting-out* do sal quaternário de amônio sobre o polímero. Sendo assim a molécula doadora de hidrogênio parece agir como um aditivo ao sistema $[N_{111}(2OH)]Cl$ -PPG. Segundo os autores os SDFA baseados em DES são na realidade sistemas quaternários. Por fim, os autores destacam que o fato destes sistemas serem quaternários ao invés de ternários não reduz a sua aplicabilidade em processos de extração, de modo que a partição de dois corantes têxteis (PB 29 e Sudan III) foi avaliada, resultando em um sistema de alta seletividade na extração. (PASSOS; TAVARES; FERREIRA; et al., 2016).

O trabalho de Passos e colaboradores (2016) reforça a necessidade de se realizar a caracterização completa do diagrama de fases envolvendo DES para que os mecanismos de separação de fases e partição de biomoléculas de interesse sejam compreendidos.

Os resultados promissores dos SDFA compostos por DES na partição de diferentes moléculas e o questionamento de Passos e colaboradores sobre a estabilidade destes solventes nos sistemas aquosos instigam uma pesquisa mais aprofundada para melhor entendimento do comportamento dos SDFA baseados em DES. Se por um lado esses sistemas devam ser tratados como quaternários, o que aumenta a complexidade do seu comportamento de fases, esse mesmo aspecto torna possível o ajuste das propriedades físico-químicas das fases em equilíbrio, fomentando o seu emprego no contexto de desenvolvimento de solventes (*designer solvent*).

CAPÍTULO 2 - Objetivos e Escopo

2.1. Objetivos

Como demonstrado até o momento, embora diversos autores tenham indicado o potencial destes SDFA na extração de diferentes biomoléculas observou-se a ausência de dados termodinâmicos de ELL que auxiliem no entendimento destes sistemas e na sua aplicabilidade considerando que DES-SDFA devem ser tratados como sistemas quaternários. Desta forma, o **principal objetivo** do presente trabalho foi:

Aplicação de solventes eutéticos profundos (DES) em sistemas de duas fases aquosas (SDFA) para a obtenção de sistemas biocompatíveis.

Para atingir tal objetivo, os seguintes **objetivos específicos** foram determinados:

Obtenção de DES a partir de compostos de diferentes tipos e posterior aplicação em SDFA;

Caracterização dos diagramas de fases dos sistemas selecionados;

Avaliação do papel das moléculas formadoras do DES (doador e receptor de hidrogênio) no equilíbrio líquido-líquido;

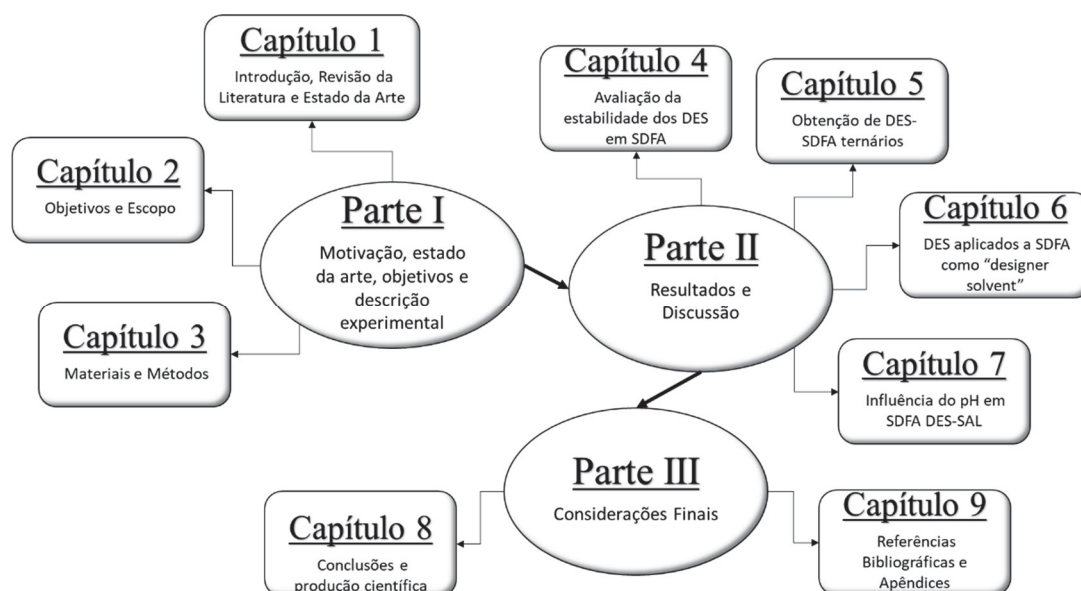
Avaliação da partição de diferentes biomoléculas nos sistemas DES-SDFA com a finalidade de descrever a capacidade dos constituintes dos DES em atuarem como moduladores das fases dos sistemas, e assim estabelecer os princípios do desenvolvimento dos processos de extração empregando esses sistemas.

2.2. Escopo da tese

Levando em consideração os objetivos propostos e de modo a facilitar o entendimento da organização desta tese o esquema apresentado na FIGURA 6 deve ser considerado.

Na Parte I foram apresentadas, de maneira geral, todas as variáveis que foram levadas em consideração para que as demais etapas deste trabalho fossem desenvolvidas. Foi realizada uma breve revisão da literatura sobre os temas chave desta tese: solventes eutéticos profundos (DES), sistemas de duas fases aquosas (SDFA) bem como um levantamento do estado da arte da aplicação dos DES em SDFA. Na sequência serão descritas as metodologias utilizadas no trabalho, bem como os resultados.

FIGURA 6 – ESQUEMA DE ORGANIZAÇÃO DA TESE



Fonte: A Autora (2018)

Para uma melhor organização, os resultados (Parte II) deste trabalho foram divididos em 4 capítulos, conforme apresentado na FIGURA 6.

O Capítulo 4 foi totalmente desenvolvido na Universidade Federal do Paraná (UFPR). No primeiro semestre de 2017 foi realizado estágio no exterior por um período de 4 meses, pelo Programa Institucional de Doutorado Sanduíche no Exterior (Capes – PDSE), junto a Universidade de Aveiro (UA) em Portugal e supervisão do Professor Dr. João A. P. Coutinho. O Capítulo 5 desta tese foi totalmente desenvolvido na UA. O

Capítulo 6 por sua vez foi desenvolvido parte na UA e parte na UFPR. Enquanto o Capítulo 7 foi realizado na UFPR.

O Capítulo 4 corresponde a *Avaliação da estabilidade dos DES em SDFA*. Passos et al. (2016) foram os primeiros autores a questionar a estabilidade dos DES aplicados em SDFA compostos por DES + PPG 400 + H₂O. Na literatura consultada não havia relatos da estabilidade de DES formando SDFA com soluções salinas. Desta forma esta etapa do trabalho teve como principal objetivo obter dados de equilíbrio de SDFA compostos por DES + K₂HPO₄ + H₂O e avaliar a estabilidade dos DES nestes sistemas. A partição de ácido gálico também foi realizada nestes sistemas para verificar a aplicação destes na separação de biomoléculas. Os resultados confirmaram a quebra das ligações de hidrogênio formadoras dos DES, e devido a partição não estequiométrica das moléculas dos doadores e receptores de hidrogênio, estes SDFA passam então a ser considerados sistemas quaternários. Neste contexto, o doador de hidrogênio se apresentou como um aditivo ao sistema alterando as características das fases.

Com os resultados apresentados no item Capítulo 4 levantou-se o questionamento se todos os SDFA baseados em DES teriam esse comportamento quaternário ou se haveria a possibilidade de se obter sistemas onde a estequiometria entre doador e receptor de hidrogênio fosse mantida. Sendo assim o Capítulo 5 corresponde a *Obtenção de SDFA ternários compostos por DES*, onde foram obtidos dados de equilíbrio líquido-líquido para o sistema composto por [N₁₁₁(2OH)]Cl, glucose e PPG (M_M 400 g mol⁻¹). Verificou-se que a combinação de um DES altamente hidrofílico ([N₁₁₁(2OH)]Cl: glucose) com um formador de fase hidrofóbico (PPG) torna possível manter a estequiometria dos DES inicial nas fases do sistema. Moléculas de diferentes grupos (fenólicos, aminoácidos e alcaloides) foram utilizadas para avaliar a capacidade destes sistemas serem aplicados em processos de separação.

Com a análise dos resultados apresentados nos Capítulos 4 e 5 verificou-se que as moléculas doadoras de hidrogênio atuam como aditivos nos SDFA. Desta forma, a molécula doadora de hidrogênio, atua como um aditivo ao sistema, fornece ao SDFA um grau de liberdade adicional para os processos de extração. Em outras palavras, enquanto um dos componentes formadores do DES atua como formador de fase o outro acaba por modificar as propriedades nas fases do SDFA controlando a partição de biomoléculas dos mais diversos tipos.

Sendo assim, no Capítulo 6, dois mono álcoois (etanol e propanol) e dois di álcoois (1,2-propanodiol e etileno glicol) foram aplicados como doadores de hidrogênio

misturados a diferentes razões molares com $[N_{111}(2OH)]Cl$ para formar SDFA com o sal K_2HPO_4 . Este capítulo corresponde a *Avaliação do efeito “designer solvent” dos DES em SDFA*. Nesta etapa, além do efeito da natureza do álcool sobre o diagrama de fases foi avaliada a capacidade destes álcoois em comandar a partição de diferentes biomoléculas nesses sistemas.

O Capítulo 7, *Influência do pH em SDFA DES-sal*, baseou-se nos resultados obtidos nos capítulos anteriores, onde espera-se obter o mesmo comportamento de SDFA pseudo-ternário, porém com polaridades opostas: DES relativamente mais hidrofóbico ($N_{444}Cl: OH$) e formador de fase hidrofílico (solução salina). Ainda com o objetivo de se obter sistemas biocompatíveis, o sal citrato de potássio foi escolhido para esta etapa do trabalho por sua habilidade em formar soluções tampão em diferentes pHs nos quais avaliou-se a influência do pH na obtenção de DES-sal SDFA e a partição de diferentes biomoléculas.

Todos os sistemas avaliados em cada capítulo dos resultados, bem como as técnicas analíticas utilizadas para caracterização dos sistemas e biomoléculas avaliadas estão descritos na TABELA 3.

Por fim, na Parte III serão mostradas todas as considerações finais referentes a este trabalho.

TABELA 3 – DESCRIÇÃO DOS SDFA ESTUDADOS EM CADA CAPÍTULO DESTE TRABALHO

Sistema	Razão molar (RH: DH)	Razão mássica (RH: DH)	Técnicas Analítica			Ensaios de Partição	
Capítulo 4			RH	DH	Água	Sal / Polímero	Biomoléculas
[N _{111(20H)}]Cl + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	n. a.	n. a.	Método Gravimétrico				
[N _{111(20H)}]Cl: glucose + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	2,5:1/ 1,3:1/ 1:1,5	2:1/ 1:1/ 1:2					Ácido Gálico
[N _{111(20H)}]Cl: frutose + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	2,5:1/ 1,3:1/ 1:1,5	2:1/ 1:1/ 1:2	TGA	TGA	TGA	TGA	
[N _{111(20H)}]Cl: sacarose + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	5:1/ 2,5:1/ 1:0,8	2:1/ 1:1/ 1:2					
Capítulo 5							
[N _{111(20H)}]Cl + PPG 400 + H ₂ O	n. a.	n. a.	Eletrodo de Cloretos	Método de DNS	Karl Fischer	Balanço de Massa	Ácido Gálico, ácido vanílico, cafeína, nicotina, L-triptofano, L- fenilalanina e L-tirosina
Glucose + PPG 400 + H ₂ O	n. a.	n. a.					
[N _{111(20H)}]Cl: glucose + PPG 400 + H ₂ O	2:1/ 1:1/ 1:2	1,5:1 / 0,8:1/ 0,4:1					
Capítulo 6							
[N _{111(20H)}]Cl + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	n. a.	n. a.	¹ H RMN	¹ H RMN	Karl Fischer	Balanço de Massa	Ácido gálico, ácido vanílico, cafeína, nicotina, L-triptofano, L- fenilalanina, L-tirosina, glicina e β-caroteno
[N _{111(20H)}]Cl: etanol + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	2:1/ 1:1/ 1:2	6:1/ 3:1/ 1,5: 1					
[N _{111(20H)}]Cl: <i>n</i> -propanol + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	2:1/ 1:1/ 1:2	4,6:1/ 2,3:1/ 1,2: 1					
[N _{111(20H)}]Cl: 1,2-propanodiol + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	2:1/ 1:1/ 1:2	3,7:1/ 1,8: 1/ 0,9:1					
[N _{111(20H)}]Cl: etileno glicol + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	2:1/ 1:1/ 1:2	4,5:1/ 2,2:1/ 1,1:1					
Etanol + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	n. a.	n. a.					
<i>n</i> -Propanol + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	n. a.	n. a.	¹ H RMN	¹ H RMN	Karl Fischer	Balanço de Massa	
1,2-propanodiol + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	n. a.	n. a.					
Etileno glicol + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	n. a.	n. a.					
Capítulo 7							
[N ₄₄₄₄]Cl + K ₃ C ₆ H ₅ O ₇ + H ₂ O	n. a.	n. a.	¹ H RMN	¹ H RMN	Karl Fischer	TGA	Ácido gálico, cafeína e L-triptofano
[N ₄₄₄₄]Cl: etanol + K ₃ C ₆ H ₅ O ₇ + H ₂ O	2:1/ 1:1/ 1:2	12:1/ 6:1 / 3:1					
[N ₄₄₄₄]Cl: <i>n</i> -propanol + K ₃ C ₆ H ₅ O ₇ + H ₂ O	2:1/ 1:1/ 1:2	9,2:1 / 4,6:1/ 2,3:1					
etanol + K ₃ C ₆ H ₅ O ₇ + H ₂ O	n. a.	n. a.					
<i>n</i> -propanol + K ₃ C ₆ H ₅ O ₇ + H ₂ O	n. a.	n. a.					

Os sistemas desta seção foram avaliados nos pH 5, 7 e 9 utilizando tampão K₃C₆H₅O/C₆H₈O₇. n. a. = não se aplica; Fonte: A Autora (2018)

¹os sistemas desta seção foram avaliados nos pH 5, 7 e 9 utilizando tampão K₃C₆H₅O₇/ C₆H₈O₇. n. a. = não se aplica; Fonte: A Autora (2018)

CAPÍTULO 3 - Materiais e Métodos

Neste capítulo serão apresentados todos os reagentes químicos, biomoléculas e metodologias utilizados para o desenvolvimento deste trabalho de maneira geral. Os sistemas avaliados e as técnicas aplicadas em cada etapa do trabalho de maneira específica são identificados na TABELA 3.

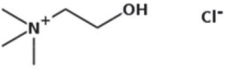
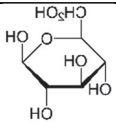
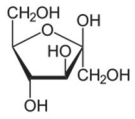
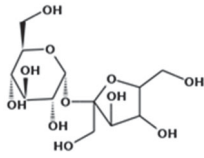
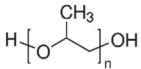
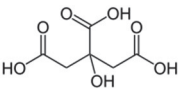
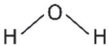
3.1. Materiais

Todos os reagentes utilizados para obtenção dos solventes eutéticos profundos e diagramas de equilíbrio líquido-líquido estão apresentados na TABELA 4, bem como sua estrutura química, massa molecular, fonte e pureza.

Na obtenção dos dados de equilíbrio líquido-líquido sempre que possível os reagentes utilizados passaram por secagem em estufa a 105 °C por pelo menos 2 horas e armazenamento em dessecador a vácuo para controle de umidade previamente ao seu uso. Quando a metodologia de secagem não era aplicável, o teor de água foi determinado pelo método coulométrico de Karl Fischer (Metrohm 831) e levado em consideração na preparação de cada solução.

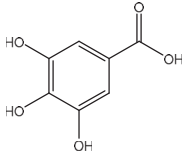
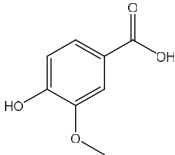
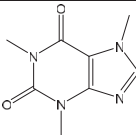
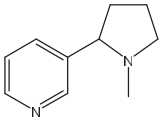
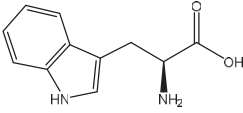
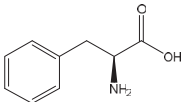
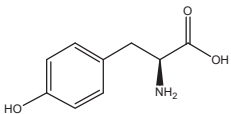
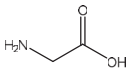
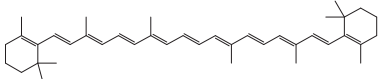
As biomoléculas utilizadas no estudo de partição dos SDFA foram os compostos fenólicos: ácido gálico (Merck, pureza $\geq 0,995$) e ácido vanílico (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 0,970$); os alcaloides: cafeína (Fluka, pureza $\geq 0,990$) e nicotina (Fluka, pureza $\geq 0,990$); aminoácidos: L-triptofano (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 0,990$), L-fenilalanina (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 0,990$), L-tirosina (Fluka, pureza $\geq 0,990$), glicina (Acros Organic, pureza $\geq 0,990$) e o carotenoide β -caroteno (Fluka, pureza $\geq 0,970$). A estrutura química de cada biomolécula avaliada e suas características como massa molecular (M_M), logaritmo de partição octanol-água ($\log K_{OW}$) e dissociação ácida (pK_a) estão na TABELA 5

TABELA 4 - ESTRUTURA QUÍMICA, FONTE E PUREZA DOS REAGENTES UTILIZADOS.

Nome Químico	Estrutura Química	Fornecedor	Pureza	Fórmula Química/ Sigla
Sais				
Fosfato de Potássio dibásico		Alphatec	≥0,9800	K ₂ HPO ₄
Citrato de Potássio tribásico		Sigma-Aldrich	≥0,9900	K ₃ C ₆ H ₅ O ₇ / K ₃ Citrato
Moléculas receptoras de hidrogênio (DES)				
Cloreto de Colina		Merck Millipore	≥0,9800	[N ₁₁₁ (2OH)]Cl
Cloreto de tetrabutilamônio		Sigma-Aldrich	≥0,9700	[N ₄₄₄₄]Cl
Moléculas doadoras de hidrogênio (DES)				
Glucose		Neon Comercial	≥0,9995	C ₆ H ₁₂ O ₆
Frutose		Neon Comercial	≥0,9995	C ₆ H ₁₂ O ₆
Sacarose		Neon Comercial	≥0,9995	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁
Etanol		Dinâmica	≥0,9995	C ₂ H ₆ O
<i>n</i> -Propanol		Neon Comercial	≥0,9995	C ₃ H ₈ O
1,2-propanodiol		Neon Comercial	≥0,9995	C ₃ H ₈ O ₂
Etileno glicol		Panreac	≥0,9995	C ₂ H ₆ O ₂
Outros				
Poli(propileno)glicol		Sigma-Aldrich	n. d.	PPG 400
Ácido Cítrico		Biotec	≥0,9900	C ₆ H ₈ O ₇
Água		-	-	H ₂ O

Fonte: ChemSpider (2018)

TABELA 5 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS BIOMOLÉCULAS, LOG (K_{OW}) E pKa

Nome	Estrutura Química	M_M (g mol ⁻¹)	log (K_{OW})	pK _{a1} /pK _{a2}
Compostos fenólicos				
Ácido Gálico		170,1	0,72	3,9/9,0
Ácido Vanílico		168,1	1,17	4,2/10,1
Alcaloides				
Cafeína		194,2	-0,55	---
Nicotina		162,2	1,16	2,7/8,6
Aminoácidos				
L-Triptofano		204,2	-1,09	2,5/9,4
L-Fenilalanina		165,2	-1,18	2,5/9,5
L-Tirosina		181,2	-1,49	2,0/9,2
Glicina		75,1	-3,41	2,3/9,2
Carotenoide				
β -Caroteno		536,9	11,12	---

Fonte: ChemSpider (2018)

3.2. Preparo dos solventes eutéticos profundo (DES)

Para o preparo dos solventes eutéticos profundos utilizados neste trabalho utilizou-se a metodologia de aquecimento brando com agitação. Nesta metodologia, o doador e receptor de hidrogênio de cada DES foram devidamente pesados e misturados, nas devidas razões

molares desejadas, e mantidos a temperatura de pelo menos 50 °C, até que um líquido homogêneo e transparente fosse observado (DAI; VAN SPRONSEN; WITKAMP; et al., 2013). Esta metodologia foi utilizada sempre que se fez necessária a obtenção dos DES.

3.3. Determinação do diagrama de fases

Todos os sistemas avaliados em cada etapa deste trabalho estão na TABELA 3, bem como a razão molar e mássica de cada mistura receptor (RH) e doador (DH) de hidrogênio dos DES.

3.3.1. Curvas Binodais

As curvas binodais foram determinadas pelo método de titulação e ponto de névoa (KAUL, 2000) a $25 \pm 0,5$ °C e pressão atmosférica. Inicialmente foram preparadas soluções aquosas de cada componente do sistema, e a solução de um componente foi adicionada gota a gota na outra até que o ponto de névoa fosse visivelmente detectado, sendo que esse ponto corresponde a delimitação da região heterogênea (bifásica). Em seguida, água foi adicionada ao sistema até que a solução se tornasse límpida novamente, correspondente a região homogênea (monofásica). A composição da mistura foi calculada por quantificação mássica (AUX320, Shimadzu) com uma incerteza de ± 0.0001 g. Este procedimento foi repetido até que fossem obtidos pontos suficiente para obtenção da curva binodal. Os experimentos foram realizados em células de vidro encamisadas para controle de temperatura e a composição da mistura foi determinada a cada ponto de névoa registrado (KAUL, 2000; PASSOS; TAVARES; FERREIRA; et al., 2016).

3.3.2. Determinação das linhas de amarração

Para obtenção das linhas de amarração de cada sistema avaliado foram escolhidas composições globais situadas na região bifásica do diagrama de fases. Os componentes foram adicionados gravimetricamente em tubos de centrífuga, conforme a composição desejada. Após pesadas ($\pm 0,0001$ g) os tubos foram agitados em agitador vórtex (MX-S, Gomixer) até completa solubilização dos componentes, sendo em seguida mantidos a 25 °C em banho termostático (RW– 1025G, Lab Companion) por aproximadamente 24 horas para garantir que o equilíbrio fosse atingido (SAMPAIO; SOSA; MARTINS; et al., 2016). Atingido o equilíbrio

as fases dos sistemas foram separadas com auxílio de uma pipeta de Pasteur e pesadas. Este procedimento foi realizado cuidadosamente para que não houvesse contaminação entre as fases do sistema. Foram realizadas medições de pH de cada fase utilizando um pHmetro (pH 11 series, OaktonTM), o qual foi previamente calibrado utilizando três soluções tampão (pH 4,00; 7,00 e 10,00).

Para determinação da composição das fases de cada sistema diferentes técnicas foram empregadas, conforme TABELA 3. Nas seções (3.3.3 e 3.3.4) estão descritas todas as metodologias utilizadas para quantificação das linhas de amarração dos diferentes sistemas deste trabalho. Determinadas as concentrações das linhas de amarração o comprimento das linhas de amarração (CLA) dos foram calculados de acordo com a Equação 11. Para os sistemas ternários o termo $(Z_{topo} - Z_{fundo})^2$ é igual a zero.

$$CLA = \sqrt{(X_{topo} - X_{fundo})^2 + (Y_{topo} - Y_{fundo})^2 - (Z_{topo} - Z_{fundo})^2} \quad (11)$$

Sempre que possível estimou-se o ponto crítico das curvas binodais através da extrapolação da inclinação das linhas de amarração dos diferentes sistemas seguido do ajuste da Equação 12.

$$Y = fX + g \quad (12)$$

Onde X, Y e Z correspondem a concentração destes componentes nas fases dos sistemas e f e g são os parâmetros de ajuste.

3.3.3. Sistemas ternários – Método gravimétrico

Esta metodologia foi aplicada para o SDFA ternário composto por $[N_{(111(2OH))}Cl + K_2HPO_4 + H_2O]$. Para os SDFA compostos por apenas três componentes, a determinação da composição das fases dos sistemas pode ser realizada matematicamente pelo método gravimétrico proposto por Merchuk (MERCHUK; ANDREWS; ASENJO, 1998). Este método considera a relação entre a massa das fases e a composição global do sistema utilizando a regra da alavanca. Para tanto, a curva binodal obtida experimentalmente foi ajustada utilizando a Equação 13.

$$Y = A \exp[(BX^{0.5}) - (CX^3)] \quad (13)$$

Onde Y e X são, respectivamente, as concentrações de $[N_{(111(2OH))}Cl]$ e K_2HPO_4 (m/m %). A , B e C são constantes obtidas por regressão dos dados experimentais.

Para obter a concentração dos componentes nas fases de topo e fundo de cada linha de amarração utiliza-se um sistema de equações (Equações (14) a (17)) proveniente do balanço de massa do sistema.

$$Y_{topo} = A \times \exp(B \times X_{topo}^{0,5} - C \times X_{topo}^3) \quad (14)$$

$$Y_{fundo} = A \times \exp(B \times X_{fundo}^{0,5} - C \times X_{fundo}^3) \quad (15)$$

$$Y_{topo} = \left(\frac{Y_m}{\alpha}\right) - \left[\left(\frac{1-\alpha}{\alpha}\right) \times Y_{fundo}\right] \quad (16)$$

$$X_{topo} = \left(\frac{X_m}{\alpha}\right) - \left[\left(\frac{1-\alpha}{\alpha}\right) \times Y_{fundo}\right] \quad (17)$$

X e Y correspondem a concentração de sal e $[N_{111(2OH)}]Cl$, respectivamente. Os subscritos topo e fundo correspondem, respectivamente, a fase de topo (rica em $[N_{111(2OH)}]Cl$) e fundo (rica em K_2HPO_4), m representa a composição da mistura inicial. O parâmetro α corresponde a razão entre a massa da fase de topo e da mistura inicial.

3.3.4. Sistemas Quaternários

Considerando que os questionamentos levantados quanto a estabilidade dos DES aplicados a SDFA e que estes podem se tornar sistemas quaternários (PASSOS; TAVARES; FERREIRA; et al., 2016) o método gravimétrico não pode ser aplicado, uma vez que não é capaz de representar a realidade do sistema. Desta forma, foram desenvolvidas técnicas analíticas capazes de caracterizar cada sistema. Estas técnicas foram escolhidas de acordo com as características de cada sistema. As análises utilizadas em cada sistema e etapa do trabalho estão na TABELA 3 e descritas a seguir. Além disso o pH das fases de topo e fundo dos diferentes sistemas foram medidos utilizando um pHmetro (pH 11 series, Oakton™), o qual foi devidamente calibrado com três soluções tampão (pH 4,0; 7,0 e 10,0).

3.3.4.1. Método termogravimétrico

Uma análise termogravimétrica utilizando o equipamento TGA 400 (Perkin Elmer) foi desenvolvida. Esta técnica é capaz de quantificar cada um dos quatro componentes presentes no SDFA (receptor de hidrogênio, doador de hidrogênio, sal e água) considerando a diferença entre a temperatura de ebulição/decomposição de cada componente. Desta forma, em todos os sistemas onde a diferença entre a temperatura de fusão/decomposição dos seus componentes é suficiente para que não ocorra sobreposição dos eventos, esta técnica pode ser utilizada para quantificar todos os componentes presentes nas fases em uma etapa única.

Para tanto, aproximadamente 10 mg de cada fase foi pesada em panelinhas de alumínio e submetidas a uma atmosfera de ar sintético a um fluxo de 50 mL/min e analisadas numa faixa de temperatura de 25 a 650 °C. A taxa de aquecimento utilizada foi de 10 °C/min. As amostras de cada fase do sistema foram avaliadas em duplicata. Esta metodologia foi devidamente validada conforme descrito a seguir.

Validação da Metodologia

Com a finalidade de avaliar a exatidão desta técnica em quantificar as fases dos sistemas, misturas de concentrações conhecidas foram preparadas de forma a representar as fases de topo e fundo de cada sistema. Essas amostras foram analisadas em triplicata nas mesmas condições descritas anteriormente.

Algumas linhas de amarração foram analisadas através da técnica de ressonância magnética nuclear (^1H RMN) com a finalidade de comparar os resultados obtidos via TGA.

3.3.4.2. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Para validação da análise termogravimétrica a seguinte metodologia foi utilizada: as fases do sistema foram analisadas em espectrômetro Bruker, modelo Advance DRX 400 MHz onde todas as amostras analisadas foram devidamente diluídas em água deuterada (D_2O) e como referência interna foi utilizado tetrametilsilano (TMS).

A técnica de ^1H RMN também foi utilizada como forma de quantificar os componentes como o doador e receptor de hidrogênio presentes nos sistemas. Esta análise foi realizada utilizando dimetilsulfoxido (DMSO) como solvente e tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Nesta técnica 75 μL de amostra, 75 μL de água, 340 μL de DMSO com 1 % de TMS e 15 μL de benzeno foram adicionados em tubos próprios para análise em RMN. O benzeno

adicionado atua como referência para a quantificação dos demais compostos presentes na amostra. A análise de ^1H RMN não permite a quantificação da água e do sal, sendo necessária uma análise complementar para quantificar estes compostos. Os valores obtidos foram confirmados por balanço de massa.

3.3.4.3. Técnicas analíticas para determinação de $[\text{N}_{111}(\text{2OH})]\text{Cl}$, glucose e água

As técnicas de TGA e ^1H RMN são capazes de quantificar mais de um componente das fases em uma etapa única. Porém, em alguns sistemas, como descrito na TABELA 3, foram utilizadas técnicas individuais para cada componente existente nas fases. Para determinação do teor de água foi aplicado o método coulométrico de Karl Fischer (Coulômetro Karl-Fischer Metrohm 831) utilizando o reagente Hydranal® (Coulomat AG reagent, Riedel-de Haën) como analito.

A glucose também foi quantificada através do método colorimétrico utilizando o ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Nessa técnica 1 mL da solução padrão de DNS foi adicionado a 1 g de cada amostra devidamente diluída, agitada e mantida em 100 °C por 10 minutos. A fim de parar a reação as amostras foram imersas em banho de gelo e diluídas para o volume final de 10 mL. O produto reduzido (3-amino-5-nitrosalicilato) da reação entre o DNS e a glucose presente na amostra, pode então ser quantificado por espectrometria de UV-vis (Shimadzu UV-1700) a 540 nm através de uma curva pré-estabelecida. Por fim, utilizando um eletrodo seletivo de íons (Metrohm 904 Titrand) pôde-se quantificar os íons de Cl^- presente na amostra e consequentemente determinar a concentração total de $[\text{N}_{111}(\text{2OH})]\text{Cl}$ presente nas mesmas.

Estas análises foram utilizadas para obtenção da composição dos sistemas do Capítulo 5 e foram realizadas em triplicata (TABELA 3).

3.3.4.4. Análise de troca iônica (ICP-AES)

Considerando que os sistemas aqui avaliados apresentam dois sais em sua composição ($[\text{N}_{111}(\text{2OH})]\text{Cl}$ e K_2HPO_4) realizou-se a análise de Plasma por Acoplamento Indutivo (ICP do inglês, *Inductively coupled plasma*) nas fases dos sistemas do Capítulo 4 para verificar a possível presença de troca iônica entre os íons dos sais que compõe esses SDFA. Para tanto, foram escolhidas duas linhas de amarração de cada sistema e os íons de fósforo e potássio foram determinados por espectroscopia de emissão atômica utilizando um espectrômetro de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-AES, Varian, Varian, model 720-ES) com

configuração axial. Previamente a análise, amostras de cada fase (1 mL) foram devidamente digeridas em 5 mL de ácido nítrico e 4 mL de peróxido de hidrogênio por 30 minutos a 100 °C, na sequência as amostras foram filtradas e diluídas para a análise em ICP.

3.4. Modelagem Termodinâmica – Modelo NRTL

O modelo NRTL (do inglês, *Non-Random-Two-Liquid*) proposto por Renon e Prausnitz (1968), e tem como base o conceito de composição local e pode ser aplicado para sistemas total e parcialmente miscíveis obtendo uma boa correlação com os dados experimentais (RENON; PRAUSNITZ, 1968). Os parâmetros do modelo NRTL foram estimados utilizando o software TML-LLE 2.0 desenvolvido por Stragevitch e D'Ávila (1997). Estes parâmetros são estimados por minimização da função objetivo descrita na Equação (18) utilizando o método numérico simplex modificado (NELDER; MEAD, 1964; SÉ; AZNAR, 2002; STRAGEVITCH; DÁVILA, 1997). O desvio médio quadrático (RMSD, do inglês *root-mean-square-deviation*) utilizado para comparar as composições experimentais de cada componente das duas fases é definido pela Equação (19).

$$FO = \sum_j^M \sum_i^{N-1} (x_{ijk}^{I.exp} - x_{ijk}^{I.calc})^2 + (x_{ijk}^{II.exp} - x_{ijk}^{II.calc})^2 \quad (18)$$

$$RMSD = 100. \sqrt{\frac{\sum_i^M \sum_j^N (x_{ij}^{I.exp} - x_{ij}^{I.calc})^2 + (x_{ij}^{II.exp} - x_{ij}^{II.calc})^2}{2MN}} \quad (19)$$

Onde, M e N são as linhas de amarração e o número de componentes, respectivamente. Os sobrescritos I e II se referem às duas fases do equilíbrio e x a fração mássica dos componentes em cada fase.

Após a determinação dos parâmetros, as concentrações dos componentes das fases obtidas pelo método NRTL foram comparadas com os dados experimentais através da minimização da função objetivo e do RMSD obtido.

3.5. Partição de Biomoléculas

Para avaliar a partição de diferentes biomoléculas nos sistemas deste trabalho foram escolhidas composições globais dentro da região bifásica de cada sistema. As misturas foram preparadas gravimetricamente em tubos de centrífuga e devidamente agitadas em agitador vórtex (MX-S, Gomixer) para completa solubilização dos componentes. Neste caso, a água a ser adicionada ao sistema foi totalmente substituída por uma solução de cada biomolécula em estudo, conforme TABELA 3.

As concentrações das biomoléculas nas soluções e o comprimento de onda utilizados para quantificação em espectrofotômetro estão na TABELA 6.

TABELA 6 – CONCENTRAÇÃO DAS BIOMOLÉCULAS EM SOLUÇÃO E COMPRIMENTO DE ONDA (nm) UTILIZADO PARA QUANTIFICAÇÃO

Biomolécula	Concentração		λ (nm)
	g L ⁻¹	mol L ⁻¹	
Ácido Gálico	0,50	$2,94 \times 10^{-3}$	262
Ácido Vanílico	0,50	$2,97 \times 10^{-3}$	259
L-Triptofano	1,00	$4,90 \times 10^{-3}$	279
L-Fenilalanina	3,00	$1,82 \times 10^{-2}$	259
L-Tirosina	0,10	$5,52 \times 10^{-4}$	275
Glicina	0,75	$9,99 \times 10^{-3}$	570
Cafeína	1,00	$5,15 \times 10^{-3}$	273
Nicotina	1,00	$6,16 \times 10^{-3}$	260
β -Caroteno	1,00	$3,10 \times 10^{-5}$	512

Fonte: A Autora (2018)

As amostras foram centrifugadas a 3500 rpm por 30 minutos para que a completa separação das fases dos sistemas fosse obtida. Em seguida, a concentração de cada biomolécula em estudo nas fases dos sistemas foi quantificada por espectrofotômetro UV-VIS (UV-1800, Shimadzu) utilizando curvas de calibração previamente estabelecidas. Foram realizados no mínimo dois experimentos individuais para cada sistema de forma a permitir a determinação do coeficiente de partição (K) e a eficiência da extração (EE %), bem como dos seus respectivos desvios padrão (σ).

Para quantificação da glicina, considerando que esta não possui anel aromático em sua estrutura, foi necessário fazer uso de reagente de ninidrina, o qual reage com a glicina conferindo cor ao sistema. Foram adicionados 75 μ L do reagente de ninidrina em 100 μ L de

amostra das fases contendo glicina, devidamente diluídas. As amostras foram então incubadas a 80 °C durante 30 minutos, e em seguida foram adicionados 100 µL de etanol 50 % (v/v) a fim de cessar a reação. Por fim as amostras eram encaminhadas para quantificação em UV-VIS (JONES; OWEN; FARRAR, 2002; MOORE; STEIN, 1954). O coeficiente de partição (K) das biomoléculas foi determinado através da razão entre a concentração de cada biomolécula nas fases dos sistemas, conforme descrito na Equação 20.

$$K = \frac{[\text{Biom}]_{\text{topo}}}{[\text{Biom}]_{\text{fundo}}} \quad (20)$$

[Biom] corresponde a concentração da biomolécula nas fases dos sistemas (topo ou fundo). Com exceção dos sistemas apresentados no Capítulo 5 onde o K foi calculado através da razão da concentração da biomolécula na fase de fundo e de topo ($K = [\text{Biom}]_{\text{fundo}} / [\text{Biom}]_{\text{topo}}$)

A eficiência da extração (EE %) foi definida como a fração entre a concentração de biomolécula na fase em que foi preferencialmente particionada (topo ou fundo) e na mistura total, Equação 21.

$$EE (\%) = \frac{m_{\text{biom}}^{\text{topo ou fundo}}}{m_{\text{biom}}^{\text{topo}} + m_{\text{biom}}^{\text{fundo}}} \times 100 \quad (21)$$

Onde, m corresponde a fração da biomolécula extraída em cada fase específica.

Quando a partição de biomoléculas semelhantes foi avaliada no mesmo sistema, a seletividade desta também foi calculada. A Seletividade (S) foi definida como a razão entre o coeficiente de partição (K) de duas biomoléculas (Equação 22).

$$S_{1/2} = \frac{K_{\text{Biom } 1}}{K_{\text{Biom } 2}} \quad (22)$$

PARTE II

Resultados e Discussão

Nesta parte serão apresentados os resultados obtidos nesta tese. Estes resultados foram divididos em 4 Capítulos conforme descrito no Capítulo 2.

CAPÍTULO 4 - Avaliação da estabilidade dos DES em SDFA¹

Neste capítulo diferentes DES, compostos por $[N_{(111(2OH))}]Cl$ como receptor de hidrogênio e os açúcares (glucose, frutose e sacarose) como moléculas doadoras de hidrogênio, foram avaliados quanto a sua capacidade de formar SDFA com o sal K_2HPO_4 e sua estabilidade no sistema aquoso.

4.1. Dados de equilíbrio líquido-líquido

Diferentes DES compostos por cloreto de colina ($[N_{(111(2OH))}]Cl$) como molécula receptora de hidrogênio (RH) e açúcares (glucose, frutose e sacarose) como moléculas doadoras de hidrogênio (DH) a diferentes razões mássicas RH: DH: 2:1, 1:1 e 1:2 foram obtidos. A partir dos solventes eutéticos produzidos fez-se o levantamento das curvas binodais DES + K_2HPO_4 + H_2O bem como para o sistema composto por $[N_{(111(2OH))}]Cl$ + K_2HPO_4 + H_2O . A escolha do sal (K_2HPO_4) para obtenção dos sistemas de duas fases aquosas se deu pela sua alta solubilidade em água (em torno de 1600 g L^{-1}) e capacidade de causar *salting-out* de acordo com a série de Hofmeister (HOFMEISTER, 1888). Todas as curvas binodais estão apresentadas na FIGURA 7 e os dados detalhados destas curvas estão apresentados no APÊNDICE A.

As curvas binodais apresentadas (FIGURA 7) indicam o limite entre as regiões monofásica e bifásica e quanto maior a capacidade de formar fases de cada DES mais próxima a binodal se encontra dos eixos de origem. De maneira contrária, quanto maior a concentração do doador de hidrogênio na formação dos DES menor foi a região bifásica obtida.

¹ Os resultados apresentados neste capítulo foram baseados no manuscrito publicado: FARIAS, F. O.; SOSA, F. H. B.; IGARASHI-MAFRA, L.; COUTINHO, J. A. P.; MAFRA, M. R. Study of the pseudo-ternary aqueous two-phase systems of deep eutectic solvent (choline chloride: sugars) + K_2HPO_4 + water. **Fluid Phase Equilibria**, v. 448, p. 143-151, 2017.

FIGURA 7 – DIAGRAMA DE FASES A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA DOS SDFA COMPOSTOS POR DES + K_2HPO_4 + H_2O , UTILIZANDO DIFERENTES DOADORES DE HIDROGÊNIO A DIFERENTES RAZÕES MÁSSICAS COM $[N_{(111(20H))}]Cl$: (■) 2:1, (▲) 1:1, (◆) 1:2 E PARA O SISTEMA (●) $[N_{(111(20H))}]Cl$ + K_2HPO_4 + H_2O

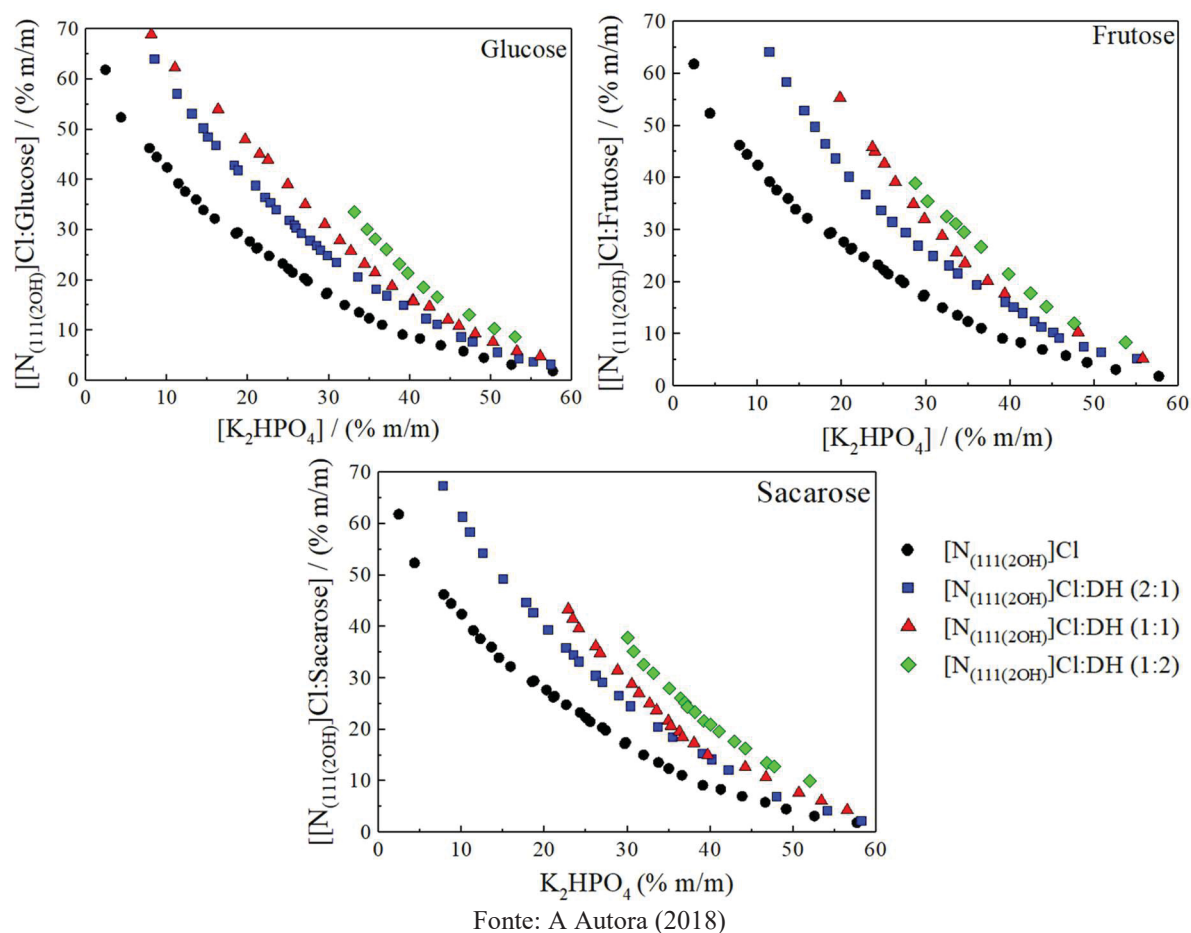
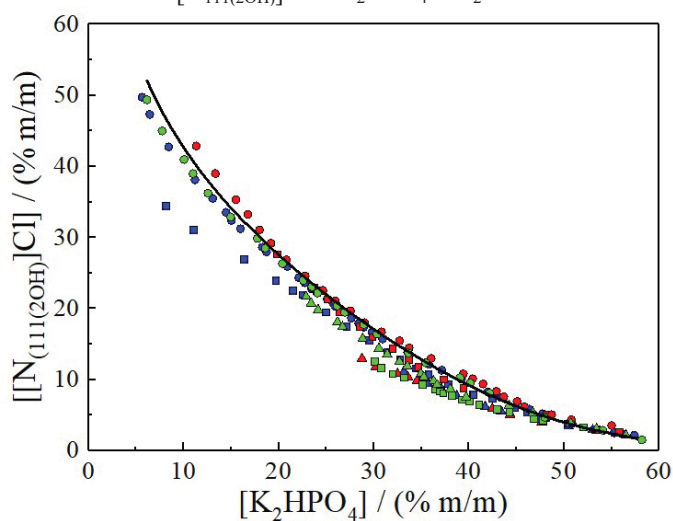


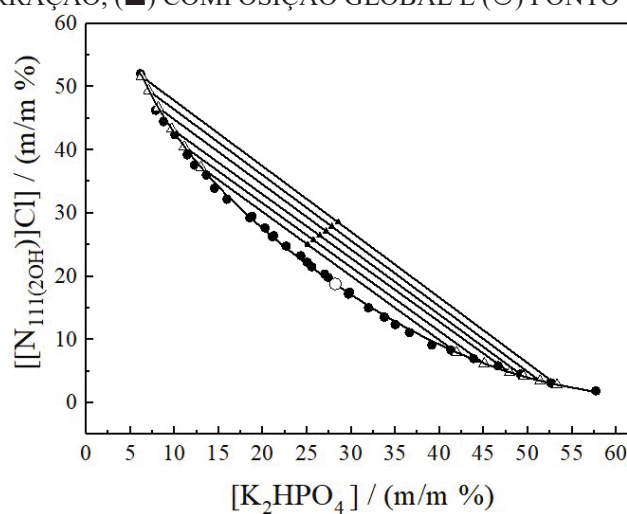
FIGURA 8 - DIAGRAMA DE FASES DOS SDFA COMPOSTOS POR DES + K_2HPO_4 + H_2O EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE $[N_{(111(20H))}]Cl$ COM DIFERENTES DOADORES DE HIDROGÊNIO: GLUCOSE (AZUL), FRUTOSE (VERMELHO) E SACAROSE (VERDE), A DIFERENTES RAZÕES MÁSSICAS COM $[N_{(111(20H))}]Cl$: (●) 2:1, (■) 1:1, (▲) 1:2 E (---) O AJUSTE DA EQUAÇÃO (13) PARA O SISTEMA $[N_{(111(20H))}]Cl$ + K_2HPO_4 + H_2O



Todas as curvas binodais apresentaram um comportamento semelhante a curva correspondente aquela obtida sem a presença de um doador de hidrogênio (sistema $[N_{111(2OH)}]Cl + K_2HPO_4 + H_2O$). Isto pode ser observado na FIGURA 8, onde todas as curvas foram plotadas em função da concentração de cloreto de colina na mistura inicial do DES e observou-se quase total sobreposição destas curvas com aquela formada apenas por cloreto de colina. Este resultado é similar aos apresentados por Passos et al. (2016) para SDFA compostos por DES e PPG ($M_M 400 \text{ g mol}^{-1}$). De acordo com estes autores este comportamento indica que a formação das duas fases aquosas ocorre predominantemente pela presença do cloreto de colina onde a molécula doadora de hidrogênio apresenta pouco efeito na formação de fases (PASSOS; TAVARES; FERREIRA et al. 2016). Os resultados aqui apresentados mostram o mesmo efeito para SDFA formados por DES e sal.

Para o sistema ternário $[N_{111(2OH)}]Cl + K_2HPO_4 + H_2O$, exclusivamente, a determinação da composição das fases foi feita pelo método gravimétrico proposto por Merchuk (MERCHUK; ANDREWS; ASENJO, 1998). Neste método a equação 13 foi utilizada para correlacionar os dados experimentais da curva binodal (parâmetros: $A = 104,11$; $B = -0,28$ e $C = 1,04E-05$; $R^2 = 0,99$) e a composição das linhas de amarração calculada por balanço de massa utilizando as Equações 14 a 17. O diagrama de fases completo para este sistema é apresentado na FIGURA 9. Na TABELA 7 são apresentados os dados experimentais de linha de amarração de todos os SDFA avaliados.

FIGURA 9 – DADOS DE ELL PARA O SDFA: $[N_{111(2OH)}]Cl + K_2HPO_4 + H_2O$: (●) CURVA BINODAL, (△) LINHAS DE AMARRAÇÃO, (■) COMPOSIÇÃO GLOBAL E (○) PONTO CRÍTICO PARA O A 25°C



Fonte: A Autora (2018)

Considerando que a presença dos açúcares não influencia na formação das fases, foram escolhidos para dar continuidade ao trabalho apenas os sistemas compostos pelos DES

[N_{111(2OH)}]Cl: açúcares na razão de 2: 1. Para estes sistemas, foram escolhidos seis pontos de composição global dentro da região bifásica, sendo a análise de termogravimetria (TGA) utilizada para quantificar a composição das fases dos sistemas. Previamente a quantificação das fases uma validação da metodologia foi realizada a qual será descrita adiante. A determinação da composição das linhas de amarração utilizando esta técnica leva em consideração a diferença entre a temperatura de fusão/decomposição de cada um dos quatro componentes formadores do sistema.

TABELA 7 - DADOS EXPERIMENTAIS DE ELL PARA OS SDFA A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA, ONDE: (1) K₂HPO₄; (2) [N_{111(2OH)}]Cl; (3) H₂O; (4) DOADOR DE HIDROGÊNIO E (5) DES.^a

ONDE: (1) K ₂ HPO ₄ , (2) [N _{111(2OH)}]Cl, (3) H ₂ O, (4) DODOR DE HIDROGÊNIO E (5) DES.											
LA	Composição Global (% m/m)		Fase de topo (% m/m)				Fase de Fundo (% m/m)				CLA
	[1]	[2 ou 5]	[1]	[2]	[3]	[4]	[1]	[2]	[3]	[4]	
[N _{111(2OH)}]Cl + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O											
1	25,1	25,0	13,0	37,3	49,8	-	41,9	7,8	50,1	-	41,2
2	25,7	25,8	11,1	40,5	48,4	-	45,1	6,2	48,7	-	48,3
3	26,5	26,4	9,7	43,3	47,0	-	47,9	4,8	47,2	-	54,3
4	27,2	27,1	8,2	46,7	45,1	-	49,5	4,5	46,3	-	59,3
5	27,8	27,9	7,1	49,4	43,5	-	51,4	3,5	45,2	-	63,8
6	28,5	28,5	6,3	51,7	42,1	-	53,3	2,8	43,9	-	67,8
[N _{111(2OH)}]Cl: glucose (2:1) + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O											
1	28,6	28,6	11,5	37,0	44,7	6,9	37,1	10,4	41,4	10,8	37,2
2	29,3	29,3	9,7	40,6	43,8	5,8	38,8	8,6	39,9	11,7	43,6
3	29,9	30,0	8,2	44,5	41,4	5,9	42,3	5,3	39,1	12,5	52,3
4	30,5	30,6	6,8	47,7	39,7	5,8	42,9	6,0	37,1	12,5	55,6
5	31,2	31,2	6,3	49,5	38,9	5,4	43,6	6,1	37,1	13,0	57,2
6	31,7	31,7	5,4	51,0	38,2	5,4	44,9	6,1	35,6	13,2	60,2
[N _{111(2OH)}]Cl: frutose (2:1) + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O											
1	28,6	28,5	16,7	32,2	43,5	7,7	34,9	12,7	42,3	10,4	26,9
2	29,3	29,2	12,4	38,0	42,9	7,2	38,1	9,7	40,7	11,1	38,5
3	29,9	29,9	10,4	41,5	42,0	6,1	40,3	8,6	39,0	12,1	44,9
4	30,5	30,6	8,9	45,4	39,6	6,1	42,5	6,6	37,2	12,5	51,8
5	31,2	31,2	8,2	47,8	38,1	5,9	43,8	5,8	37,0	12,9	55,5
6	31,7	31,8	8,1	48,5	38,1	5,2	45,8	4,6	35,7	13,8	58,5
[N _{111(2OH)}]Cl: sacarose (2:1) + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O											
1	28,6	28,6	14,9	33,8	44,2	7,1	35,6	10,8	42,9	10,9	31,1
2	29,3	29,2	10,7	40,8	42,7	5,8	39,7	8,1	41,5	11,9	44,1
3	29,9	30,0	9,1	44,4	40,7	5,9	41,3	6,9	40,0	12,2	49,8
4	30,5	30,6	7,8	47,3	39,5	5,4	43,3	6,0	38,6	12,8	55,0
5	31,2	31,2	7,1	50,2	37,3	5,4	43,4	5,6	37,7	13,0	58,3
6	31,8	31,7	7,4	50,6	37,2	4,8	45,1	5,5	35,7	13,6	59,4

^a As incertezas padrão (u) são u(m) = 0,1 %, u(T) = 0,2 °C e u(P) = 10 kPa.

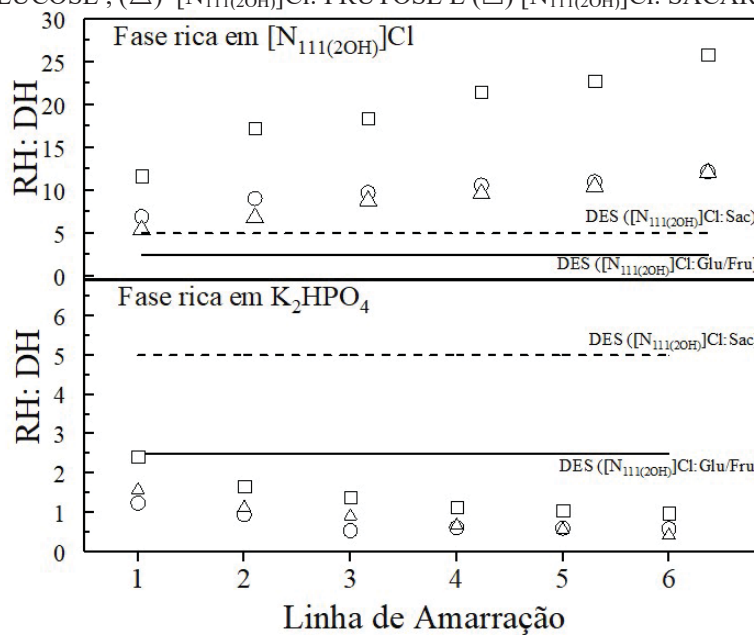
Fonte: A Autora (2018)

A técnica de TGA já foi previamente utilizada com resultados satisfatórios na determinação do teor de água em equilíbrio líquido-líquido e sólido-líquido entre água e LIs (SHAN; WONG; PEI; et al., 2002), quantificação de DES em compósitos (XU; WANG; DING; et al., 2016) e determinação do teor de água em DES (DAI; VAN SPRONSEN; WITKAMP; et

al., 2013). Neste trabalho o uso desta técnica para quantificação das fases também apresentou resultados satisfatórios com desvios máximo e médio de 1,0 e 0,4 %, respectivamente.

Como mostram os resultados apresentados na TABELA 7, o doador de hidrogênio (açúcares) se particiona preferencialmente para a fase de fundo, enquanto que a molécula receptora de hidrogênio ($[N_{111}(2OH)]Cl$) está presente em maior concentração na fase de topo. A razão mássica entre o receptor e doador de hidrogênio em cada fase não corresponde a razão original de formação dos DES indicando uma partição diferente do RH e DH entre as fases. Se as ligações formadoras dos DES se mantivessem nas soluções aquosas a relação entre receptor e doador de hidrogênio em ambas as fases deveria ser a mesma, da observada na composição global, o que não ocorreu evidenciando a quebra das ligações de hidrogênio responsáveis pela formação dos DES. Estes resultados estão de acordo com os resultados previamente apresentados por Passos et al. (2016) para SDFA formados por DES e PPG. Na FIGURA 10, pode se observar a relação molar entre doador e receptor de hidrogênio nas fases dos sistemas em comparação com a relação do DES inicial, confirmando a quebra das ligações de hidrogênio entre o RH e DH, e que estes sistemas são de fato sistemas quaternários, conforme discutido anteriormente. Os valores das razões molares entre doador e receptor de hidrogênio apresentadas na FIGURA 10 estão também apresentados no APÊNDICE D.

FIGURA 10 - RAZÃO MOLAR ENTRE RECEPTOR (RH) E DOADOR DE HIDROGÊNIO (DH) NO DES INICIAL (LINHAS CONTÍNUAS E TRACEJADAS) PARA E AS FASES DOS SDFA: (O) $[N_{111}(2OH)]Cl$: GLUCOSE, (Δ) $[N_{111}(2OH)]Cl$: FRUTOSE E (\square) $[N_{111}(2OH)]Cl$: SACAROSE

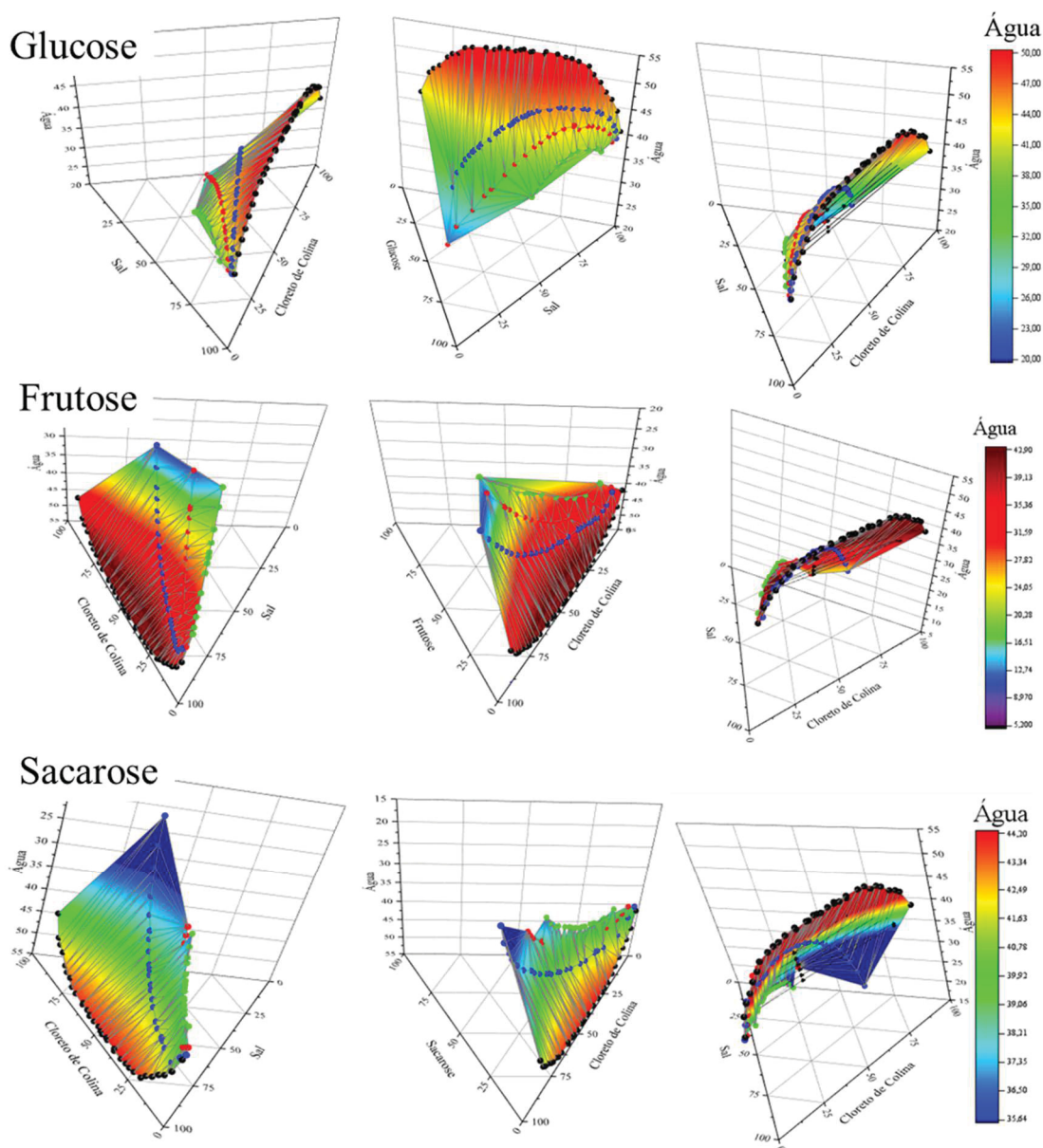


Fonte: A Autora (2018)

Os sistemas quaternários possuem maior complexidade que sistemas ternários. Desta forma, nem sempre a representação ternária ou pseudo-ternária é suficiente para representar este tipo de sistema graficamente. Nesse caso, os sistemas podem ser apresentados em forma de superfície em três dimensões, como mostrado na FIGURA 11.

O pH das fases destes sistemas também foi medido e variou de 10,3 a 11,0 e não foram observadas diferenças significativas entre o pH de topo e fundo (APÊNDICE B).

FIGURA 11 – REPRESENTAÇÃO TRIDIMENSIONAL DOS SISTEMAS QUATERNÁRIOS $[N_{111}(2OH)]Cl +$ DOADOR DE HIDROGÊNIO + $K_2HPO_4 + H_2O$ EM DIFERENTES RAZÕES $[N_{111}(2OH)]Cl$: AÇÚCARES: (●) 2:1, (●) 1:1 E (●) 1:2, PARA O SISTEMA (●) TERNÁRIO $[N_{111}(2OH)]Cl + K_2HPO_4 + H_2O$. (—▲—) AS LINHAS DE AMARRAÇÃO TAMBÉM FORAM APRESENTADAS.



Fonte: A Autora (2018)

4.1.1. Validação da Metodologia de TGA para determinação das linhas de amarração

Até o desenvolvimento do presente trabalho, não havia relatos na literatura consultada sobre o uso da técnica de TGA para a determinação da composição das fases de SDFA. Desta forma uma validação da metodologia tornou-se necessária. Num primeiro momento avaliou-se a aplicabilidade desta análise em quantificar os diferentes compostos presentes nas fases através do preparo de amostras de concentrações conhecidas. Esta metodologia quando aplicada em amostras de concentrações conhecidas apresentou boa capacidade de quantificar os diferentes compostos bem como baixo desvio padrão entre suas repetições. Os resultados dessa validação são apresentados no APÊNDICE C. Porém, para garantir a confiabilidade da técnica aplicada em amostras desconhecidas, as fases de algumas linhas de amarração foram avaliadas tanto pela técnica de TGA quanto pela técnica de ^1H RMN. Comparando os resultados de ambas as técnicas, em termos de razão molar entre doador e receptor de hidrogênio, estas apresentaram resultados muito próximos (TABELA 8), o que demonstra a confiabilidade da técnica de TGA na quantificação das fases dos sistemas avaliados nessa etapa.

TABELA 8 - RAZÃO MOLAR ENTRE RH $[\text{N}_{(111(2\text{OH})]}\text{Cl}$ E DH (AÇÚCARES) NAS FASES RICA EM $[\text{N}_{(111(2\text{OH})]}\text{Cl}$ E FASE RICA EM K_2HPO_4 PELAS ANÁLISES DE ^1H RMN E TGA.

Sistema	Composição global (% m/m)			RH: DH Razão molar			
	K_2HPO_4	DES	DES	Fase rica em $[\text{N}_{(111(2\text{OH})]}\text{Cl}$		Fase rica em K_2HPO_4	
				RMN	TGA	RMN	TGA
$[\text{N}_{(111(2\text{OH})]}\text{Cl}:\text{Glucose}+\text{K}_2\text{HPO}_4+\text{H}_2\text{O}$			0,4	0,19	0,14	0,87	0,80
$[\text{N}_{(111(2\text{OH})]}\text{Cl}:\text{Frutose}+\text{K}_2\text{HPO}_4+\text{H}_2\text{O}$	28,5	28,5	0,4	0,21	0,19	0,90	0,63
$[\text{N}_{(111(2\text{OH})]}\text{Cl}:\text{Sacarose}+\text{K}_2\text{HPO}_4+\text{H}_2\text{O}$			0,2	0,10	0,09	0,58	0,41

Fonte: A Autora (2018)

4.1.2. Análise de troca iônica

Considerando que os sistemas aqui estudados são de fato sistemas quaternários onde os doadores de hidrogênio (açúcares) apresentam pouco efeito na obtenção dos SDFA os principais componentes responsáveis pela formação das fases são dois sais: o sal cosmotrópico K_2HPO_4 e o sal quaternário de amônio $[\text{N}_{(111(2\text{OH})]}\text{Cl}$. Sendo ambos os sais fortemente ionizáveis é de se esperar uma possível troca iônica entre os sais (GUTOWSKI; BROKER; WILLAUER; et al., 2003) de modo que a extensão desta troca é dependente da força de cada íon de acordo com a série de Hofmeister (HOFMEISTER, 1888). De maneira geral, íons cosmotrópicos como

K^+ , HPO_4^{2-} , Cl^- e também o $[N_{111(2OH)}]^+$ tendem a ser solvatados pela água o que pode reduzir ou mesmo evitar a troca iônica.

A alta tendência destes sais em sofrer hidratação também pode ser avaliada em relação a energia de hidratação de Gibbs ($\Delta G_{\text{hidratação}}$), a qual mostra que fortes ligações entre a água do sistema e os íons destes sais podem ser formadas tornando insignificante a troca iônica entre estes sais (MARCUS, 1991). Além disso, eletrólitos fortes nas concentrações normalmente observadas em SDFA não são inteiramente dissociados, o que não contribui para que ocorra a troca iônica (KURNIA; FREIRE; COUTINHO, 2013). A troca iônica em sistemas compostos por cloreto de 3-metilimidazólio e o íon PO_3^{4-} , por exemplo, já foi devidamente avaliada e considerada muito pequena (DUPONT; DEPUYDT; BINNEMANS, 2015) conforme o previsto por Gutowski et al. (2003). Sabe-se também que a interação cátion-ânion do $[N_{111(2OH)}]Cl$ é mais forte que para cloretos de alquil-metilimidazólios, por exemplo, sendo possível prever que nos sistemas avaliados neste trabalho a troca iônica não deve ocorrer de forma significativa. Porém para confirmar a não existência da troca iônica dos SDFA estudados a análise ICP foi realizada para quantificar os íons de fósforo e potássio presentes nas fases dos sistemas. Foram avaliadas duas linhas de amarração para cada sistema, a mais próxima e a mais afastada da curva binodal (A composição global das linhas de amarração avaliadas estão na TABELA 7), as quais são as que apresentam maior e menor teor de água em sua composição global, respectivamente. Os resultados obtidos são apresentados na TABELA 9.

TABELA 9 – CONCENTRAÇÃO DOS ÍONS DE POTÁSSIO E FÓSFORO NAS FASES DE TOPO E FUNDO OBTIDA PELAS ANÁLISE DE TGA E ICP. ^a

LA	Potássio (K) / (C_K mol/Kg)				Fósforo (P) / (C_P mol/kg)				C_K/C_P – ICP	
	TGA ^b Topo	ICP Top	TGA ^b Fundo	ICP Fundo	TGA ^b Topo	ICP Topo	TGA ^b Fundo	ICP Fundo	Topo	Fundo
$[N_{111(2OH)}]Cl + K_2HPO_4 + H_2O$										
1	1,49	1,56	4,81	5,48	0,75	0,80	2,41	2,61	1,9	2,1
6	0,72	0,71	6,12	6,37	0,36	0,40	3,06	3,25	1,8	2,0
$[N_{111(2OH)}]Cl$: glucose (2:1) + $K_2HPO_4 + H_2O$										
1	1,32	1,32	4,26	4,26	0,66	0,71	2,13	2,28	1,9	1,9
6	0,62	0,66	5,16	5,60	0,31	0,40	2,58	2,83	1,6	2,0
$[N_{111(2OH)}]Cl$: frutose (2:1) + $K_2HPO_4 + H_2O$										
1	1,92	2,00	4,01	4,29	0,96	1,09	2,00	2,13	2,0	1,8
6	0,93	0,69	5,26	5,60	0,47	0,40	2,63	2,65	1,7	2,1
$[N_{111(2OH)}]Cl$: sacarose (2:1) + $K_2HPO_4 + H_2O$										
1	1,71	1,76	4,09	4,44	0,86	0,95	2,04	2,36	1,9	1,9
6	0,85	0,69	5,18	5,78	0,42	0,39	2,59	2,69	1,8	2,1

^a As incertezas padrão desta análise, u, são $u(C_i) = 0,01$ mol/kg; $u(C_K/C_P) = 0,1$, ^b Calculados através da concentração de sal determinada por TGA. Fonte: A Autora (2018)

Considerando que para cada íon de fósforo (P) presente na molécula do sal utilizado (K_2HPO_4) existem dois íons de potássio (K) a razão molar entre as concentrações de potássio e

fósforo nas fases deve ser próxima a dois. Esta razão foi observada para todas as linhas de amarração avaliadas, TABELA 9, confirmando que a troca iônica entre os sais utilizados neste trabalho é desprezível, como já foi reportado previamente na literatura (BRIDGES; GUTOWSKI; ROGERS, 2007; FREIRE; CLÁUDIO; ARAÚJO; et al., 2012; GUTOWSKI; BROKER; WILLAUER; et al., 2003; KURNIA; FREIRE; COUTINHO, 2013; SAMPAIO; SOSA; MARTINS; et al., 2016; WANG; HAN; LIU; et al., 2013).

4.2. Modelagem Termodinâmica

A TABELA 10 apresenta a interação binária entre os parâmetros do modelo NRTL para o sistema ternário ($[N_{111(2OH)}]Cl + K_2HPO_4 + H_2O$) e quaternários ($[N_{111(2OH)}]Cl + DH + K_2HPO_4 + H_2O$) a 25 °C. O modelo de NRTL proposto apresentou boa correlação com os dados experimentais para todos os sistemas estudados com um desvio médio inferior a 1,7 %.

TABELA 10 - PARÂMETROS DO MODELO NRTL PARA OS SDFA TERNÁRIO E QUATERNÁRIOS

Parâmetros (i/j)	A(0) _{ij}	A(0) _{ji}	Alfa(0) _{ij}	RMSD* (%)
$[N_{111(2OH)}]Cl / K_2HPO_4$	2321,1	1957,3	0,2091	0,7
K_2HPO_4 / H_2O	-1786,3	504,1	0,2200	
$[N_{111(2OH)}]Cl / H_2O$	-1263,8	1356,7	0,3432	
$[N_{111(2OH)}]Cl / K_2HPO_4$	2012,6	2357,7	0,2000	0,9
$K_2HPO_4 / Glucose$	115,78	-62,3	0,3487	
K_2HPO_4 / H_2O	802,8	782,0	0,3484	
$[N_{111(2OH)}]Cl / Glucose$	36,1	188,7	0,2209	
$[N_{111(2OH)}]Cl / H_2O$	-337,6	1212,9	0,4346	
$H_2O / Glucose$	-1439,1	4362,4	0,2480	
$[N_{111(2OH)}]Cl / K_2HPO_4$	2300,7	1311,5	0,2000	1,7
$K_2HPO_4 / Frutose$	115,8	-62,3	0,3487	
K_2HPO_4 / H_2O	1567,1	855,7	0,3484	
$[N_{111(2OH)}]Cl / Frutose$	-84,4	-223,1	0,2000	
$[N_{111(2OH)}]Cl / H_2O$	-869,5	2296,5	0,2000	
$H_2O / Frutose$	-1556,6	4337,6	0,2006	
$[N_{111(2OH)}]Cl / K_2HPO_4$	1963,4	1512,2	0,2000	1,3
$K_2HPO_4 / Sacarose$	115,8	-62,3	0,3487	
K_2HPO_4 / H_2O	802,8	782,0	0,3484	
$[N_{111(2OH)}]Cl / Sacarose$	-84,34	-223,1	0,2504	
$[N_{111(2OH)}]Cl / H_2O$	-337,6	1212,9	0,4598	
$H_2O / Sacarose$	-1556,6	4337,6	0,2661	

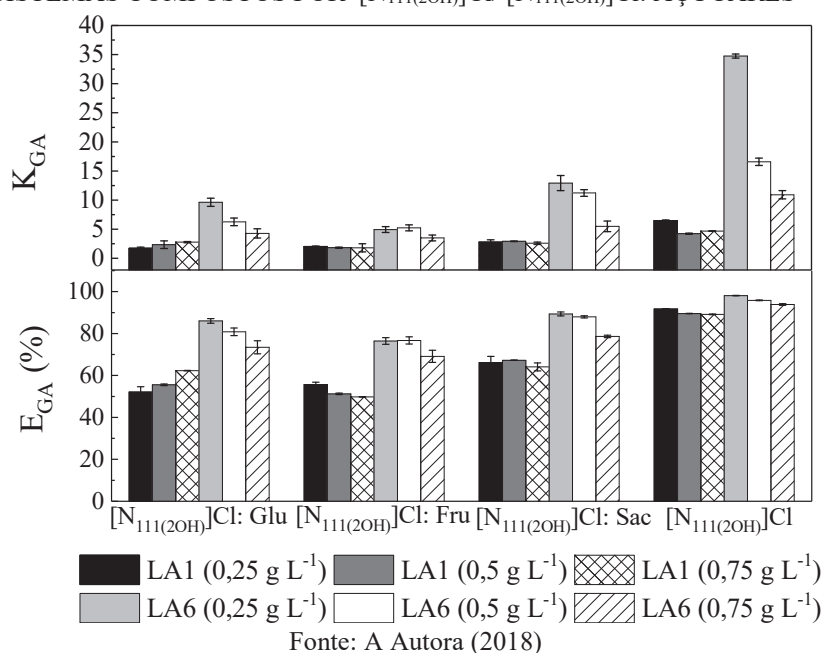
Fonte: A Autora (2018)

4.3. Partição de Ácido Gálico

Levando em consideração o efeito pouco significativo dos doadores de hidrogênio na obtenção dos SDFA deste estudo, optou-se por avaliar a influência da presença deste quarto componente na partição de biomoléculas. Para tanto a partição da biomolécula ácido gálico foi

avaliada. Num primeiro momento avaliou-se a partição de três diferentes concentrações de ácido gálico (0,25, 0,50 e 0,75 g L⁻¹) nas linhas de amarração mais próxima e mais afastada da curva binodal (LA1 e LA6), sendo que a composição global destas linhas de amarração estão descritas na TABELA 7. O coeficiente de partição (K_{AG}) e a eficiência da fase de topo em extrair a molécula de ácido gálico (EE_{AG} %) estão apresentados na FIGURA 12.

FIGURA 12 - COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K_{AG}) E EFICIÊNCIA NA EXTRAÇÃO (EE_{AG} %) DE ÁCIDO GÁLICO EM SISTEMAS COMPOSTOS POR [N₁₁₁(2OH)]Cl/ [N₁₁₁(2OH)]Cl: AÇÚCARES + K₂HPO₄ + H₂O

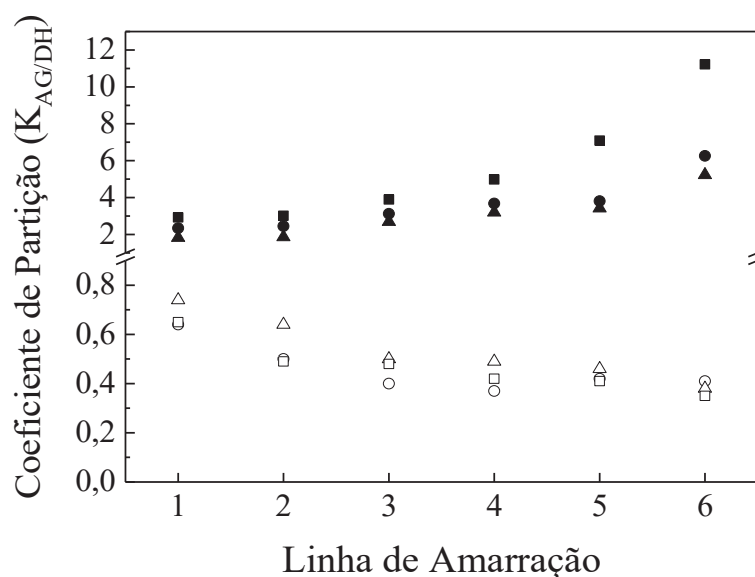


Em todos os casos estudados os valores de K_{AG} foram superiores a 1, o que indica maior afinidade do ácido gálico com a fase rica em cloreto de colina (fase de topo). Da mesma forma, maiores valores de K_{AG} resultaram em maior eficiência (E_{AG} %) da fase de topo. A molécula de ácido gálico apresenta boa capacidade de formar ligações de hidrogênio, e assim particiona-se preferencialmente para fases mais hidrofílicas (ALMEIDA; PASSOS; PEREIRA; et al., 2014). Neste trabalho, portanto, combinando esta capacidade de formar ligações de hidrogênio e o efeito *salting-out* causado pelo sal K₂HPO₄, são fatos que podem explicar a preferência desta molécula pela fase de topo. Foram observadas também diferenças entre a partição do ácido gálico entre os sistemas com diferentes tipos de moléculas doadores de hidrogênio (FIGURA 12).

A hidrofílicidade dos doadores de hidrogênio, de acordo com seu logaritmo de partição octanol/água ($\log K_{OW}$) obedece a seguinte ordem: sacarose ($\log K_{OW} = -4,53$) > glucose ($\log K_{OW} = -2,93$) > frutose ($\log K_{OW} = -2,76$). É possível observar na FIGURA 12 que o K_{AG} reduziu com o aumento da hidrofílicidade do DH. Considerando os monossacarídeos glucose e frutose

nota-se que, embora sejam isômeros, esses doadores de hidrogênio apresentam diferentes conformações moleculares ou seja, diferente acesso dos grupos hidroxila (-OH) (TABELA 4). Desta forma é possível que a glucose apresente-se mais suscetível para a formação de ligações de hidrogênio do que a frutose (FREIRE; LOUROS; REBELO; COUTINHO, 2011; OKUNIEWSKI; PADUSZYŃSKI; DOMAŃSKA, 2016). Comparando os sistemas com e sem DH é possível observar que a presença dos açúcares promoveu uma competição entre o doador de hidrogênio e a molécula de ácido gálico para realizar ligações de hidrogênio. Esse fato permite concluir que, embora os DH não tenham afetado significativamente o comportamento das fases dos sistemas avaliados, é clara a sua influência no coeficiente de partição nestes sistemas. Considerando que a o DH se particiona preferencialmente para a fase de fundo e que sua presença reduz a partição do ácido gálico para a fase de topo, realizou-se a partição do ácido gálico numa concentração de $0,5 \text{ g L}^{-1}$ em todas as linhas de amarração de cada sistema com DES a fim de avaliar a relação entre o K_{GA} e o K_{DH} (FIGURA 13) e o efeito da presença destes doadores de hidrogênio na partição do ácido gálico.

FIGURA 13 - K_{AG} (SÍMBOLOS FECHADOS) E K_{DH} (SÍMBOLOS VAZADOS) PARA AS LINHAS DE AMARRAÇÃO DOS SISTEMAS COMPOSTOS POR DES + K_2HPO_4 + H_2O : (○) GLUCOSE, (△) FRUTOSE E (□) SACAROSE.



Fonte: A Autora (2018)

A FIGURA 13 mostra que o K_{AG} aumenta conforme a linha de amarração se afasta do ponto crítico da curva binodal. Por outro lado, quanto maior a concentração de doador de hidrogênio na composição global, menor os valores de K_{DH} , ou seja, maior a partição dos açúcares para a fase de fundo, reforçando a preferência desses compostos para essa fase. Conhecer a influência

das moléculas doadoras de hidrogênio nas fases dos sistemas é importante para desenvolver novos SDFA com a habilidade de modificar as características das fases dos sistemas de acordo com a biomolécula a ser particionada. Além disso, este trabalho indicou sistemas capazes de particionar ácido gálico de maneira similar ou superior a diferentes SDFA formados por líquido iônico-sal e polímero-sal (ALMEIDA; PASSOS; PEREIRA; et al., 2014; CLÁUDIO; FERREIRA; FREIRE; et al., 2012; REIS; CAMPOS; SANTOS; et al., 2015; SIMENTAL-MARTÍNEZ; MONTALVO-HERNÁNDEZ; RITO-PALOMARES; BENAVIDES, 2014). Todos os valores de coeficiente de partição e eficiência da extração também podem ser observados no APÊNDICE E.

4.4. Considerações Finais

No Capítulo 4 diferentes solventes eutéticos profundos (DES) utilizando cloreto de colina como receptor de hidrogênio (RH) e diferentes açúcares (glucose, frutose e sacarose) como molécula doadora de hidrogênio (DH) foram preparados e aplicados na obtenção de SDFA, sendo obtidos dados de equilíbrio líquido-líquido destes sistemas a 25 °C. A molécula RH (cloreto de colina) apresentou efeito significativo na obtenção dos SDFA, enquanto que os DH parecem agir como aditivos aos sistemas. A análise de TGA foi proposta para medir a composição das fases dos sistemas, apresentando baixo desvio padrão (<1 %) na quantificação das amostras. Com esta técnica também foi possível comprovar que ocorre a quebra das ligações de hidrogênio formadoras dos DES, quando estes são utilizados como formadores do SDFA, através da partição diferenciada do cloreto de colina e os açúcares nas fases dos sistemas, tornando esses sistemas de fato quaternários. Verificou-se também que a fase de topo dos sistemas se apresentou rica em cloreto de colina e que os açúcares se particionaram preferencialmente para fase de fundo (rica em K_2HPO_4). O modelo NRTL foi empregado na correlação com os dados experimentais, apresentando boa concordância (desvios inferiores a 1,7 %). A partição de ácido gálico também foi avaliada nos diferentes sistemas. Observou-se que, embora não apresentem efeito significativo no comportamento de fases dos sistemas, os doadores de hidrogênio (glucose, frutose e sacarose) foram capazes de alterar a partição do ácido gálico nos SDFA avaliados. Portanto, é possível afirmar que os DH, aqui tratados como um quarto componente, apresentam um efeito sobre as características físico-químicas das fases, podendo ser empregando no desenvolvimento de SDFA adequados para cada aplicação.

CAPÍTULO 5 - Obtenção de SDFA ternários compostos por DES²

No Capítulo 5 os DES compostos por $[N_{111}(2OH)]Cl$ e glucose em diferentes razões molares (2:1, 1:1 e 1:2) foram avaliados quanto a sua capacidade em formar SDFA pseudo-ternários com o polímero PPG (M_M 400 g mol⁻¹).

5.1. Dados de Equilíbrio Líquido-Líquido

Os solventes eutéticos profundos (DES) compostos por cloreto de colina e glucose ($[N_{111}(2OH)]Cl$: glucose) foram obtidos em três diferentes razões molares (2:1, 1:1 e 1:2). Os DES, $[N_{111}(2OH)]Cl$: glucose, foram então utilizados para obtenção de curvas binodais com o polímero poli(propileno)glicol de massa molar 400 g mol⁻¹ (PPG 400). As curvas binodais para os sistemas $[N_{111}(2OH)]Cl$: glucose + PPG 400 + H₂O e para os sistemas ternários $[N_{111}(2OH)]Cl$ + PPG 400 + H₂O e glucose + PPG 400 + H₂O estão na FIGURA 14. Os dados de razão mássica dos pontos formadores das binodais estão reportados no APÊNDICE A.

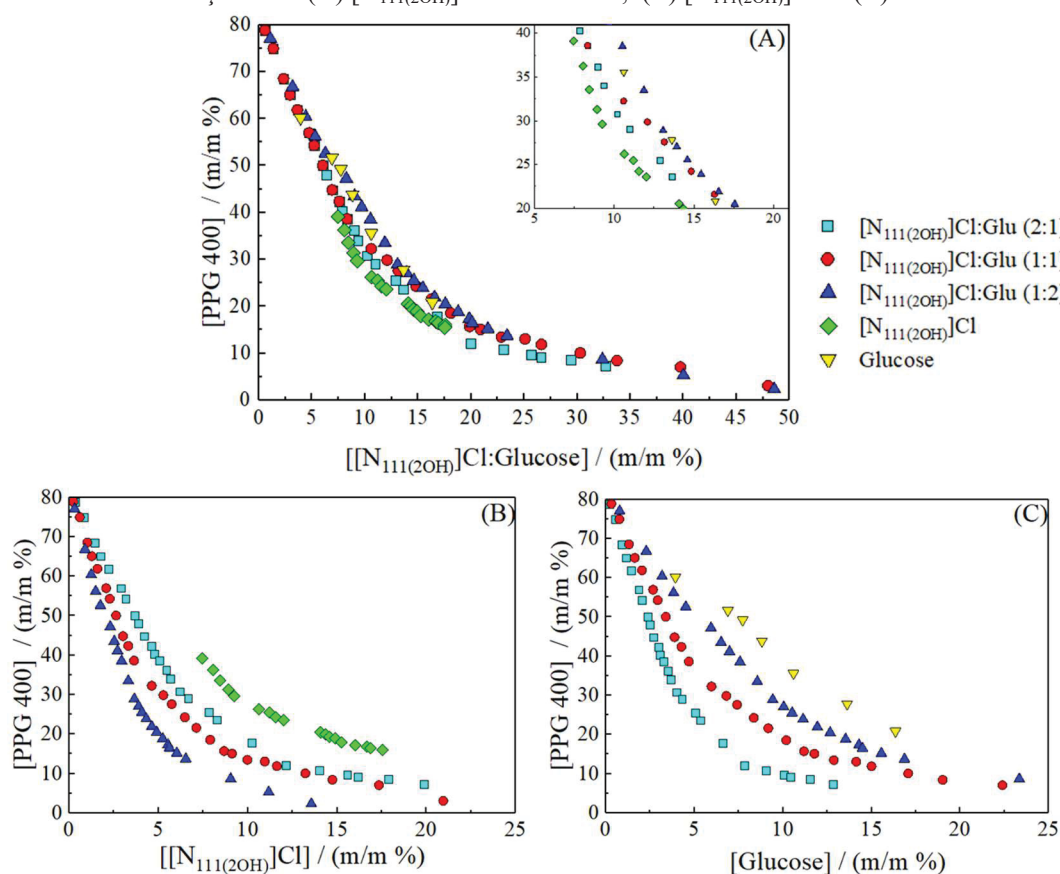
A formação de duas fases em sistemas compostos por $[N_{111}(2OH)]Cl$ e PPG em soluções aquosas ocorre devido ao mecanismo de *salting-out* o qual é realizado pelo $[N_{111}(2OH)]Cl$ sobre o PPG, devido a sua grande capacidade de formar complexos de hidratação. É importante ressaltar que este comportamento se difere do mecanismo de formação de fases entre um LI e um polímero, por exemplo, a qual é controlada por interações bem estabelecidas entre o LI e o polímero (NEVES; SHAHRIARI; LEMUS; et al., 2016; QUENTAL; CABAN; PEREIRA; et al., 2015).

Sabe-se que as ligações de hidrogênio formadoras dos DES são quebradas quando estes são aplicados em SDFA devido a solvatação, realizada pela água, sob os componentes individuais que formam os DES. Tem-se ainda que o $[N_{111}(2OH)]Cl$ desempenha maior papel na formação dessas fases, enquanto que o doador de hidrogênio (glucose) apresenta menor efeito na obtenção dos SDFA, atuando como aditivo ao sistema (FARIAS; SOSA; IGARASHI-MAFRA; et al., 2017; PASSOS; TAVARES;

²Os resultados apresentados neste capítulo foram baseados no manuscrito publicado: FARIAS, F. O.; PASSOS, H.; LIMA, A. S.; MAFRA, M. R.; COUTINHO, J. A. P. Is It Possible To Create Ternary-like Aqueous Biphasic Systems with Deep Eutectic Solvents? *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, v. 5, p. 9402-9411, 2017.

FERREIRA; et al., 2016). Desta forma, para demonstrar o efeito de cada componente formador dos DES as binodais foram representadas em função da concentração de DES (FIGURA 14A), da concentração de $[N_{111}(2OH)]Cl$ (FIGURA 14B) e da concentração de glucose (FIGURA 14C). Na FIGURA 14A, observa-se a quase total sobreposição entre as curvas binodais, mesmo a diferentes razões molares da mistura $[N_{111}(2OH)]Cl$: glucose, onde, apenas uma suave redução da região bifásica foi observada com o aumento da concentração de glucose no sistema.

FIGURA 14 – DIAGRAMA DE FASES A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA DOS SDFA COMPOSTOS POR PPG 400, H_2O E $[N_{111}(2OH)]Cl$: GLUCOSE A DIFERENTES RAZÕES MOLARES: (■) 2:1, (●) 1:1 E (▲) 1:2 E PARA OS SISTEMAS (◆) $[N_{111}(2OH)]Cl$ + PPG + H_2O E (▼) GLUCOSE + PPG + H_2O . AS CURVAS BINODAIS FORAM REPRESENTADAS EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE (A) $[N_{111}(2OH)]Cl$: GLUCOSE, (B) $[N_{111}(2OH)]Cl$ E (C) GLUCOSE.



Fonte: A Autora (2018)

Nos trabalhos de Passos *et al.*, (2016) e Farias *et al.*, (2017) para os SDFA compostos por $[N_{111}(2OH)]Cl$: ácidos carboxílicos + PPG 400 + H_2O e $[N_{111}(2OH)]Cl$: (glucose/ frutose ou sacarose) + K_2HPO_4 + H_2O , respectivamente, quando plotadas as curvas binodais em função da concentração de $[N_{111}(2OH)]Cl$ estas se sobrepuseram indicando a predominância do cloreto de colina sobre a formação das fases. Neste

trabalho, em contrapartida, este comportamento não se repetiu, e as curvas binodais parecem ser fortemente afetadas pela concentração de glucose no sistema (FIGURA 14B). Verificou-se que quanto maior a concentração de glucose presente na mistura, mais próximas as curvas binodais estão do eixo de origem o que significa que uma menor concentração de $[N_{111(2OH)}]Cl$ é necessária para induzir a separação das fases. A capacidade da glucose em formar fases com o PPG 400 foi confirmada pela determinação do diagrama ternário glucose + PPG 400 + H_2O (FIGURA 14A). Desta forma, optou-se também por representar as curvas binodais em função das concentração de glucose (FIGURA 14C) ressaltando mais uma vez a influência da $[N_{111(2OH)}]Cl$ e da glucose, na obtenção dos SDFA. Foram obtidas linhas de amarração a diferentes composições globais para cada razão molar de $[N_{111(2OH)}]Cl$: glucose, sendo os dados estão apresentados na TABELA 11.

TABELA 11 - DADOS EXPERIMENTAIS DE ELL PARA OS SDFA A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA, ONDE: (1) $[N_{111(2OH)}]Cl$; (2) GLUCOSE; (3) PPG 400; (4) H_2O E (5) DES $([N_{111(2OH)}]Cl: GLU)$.^a

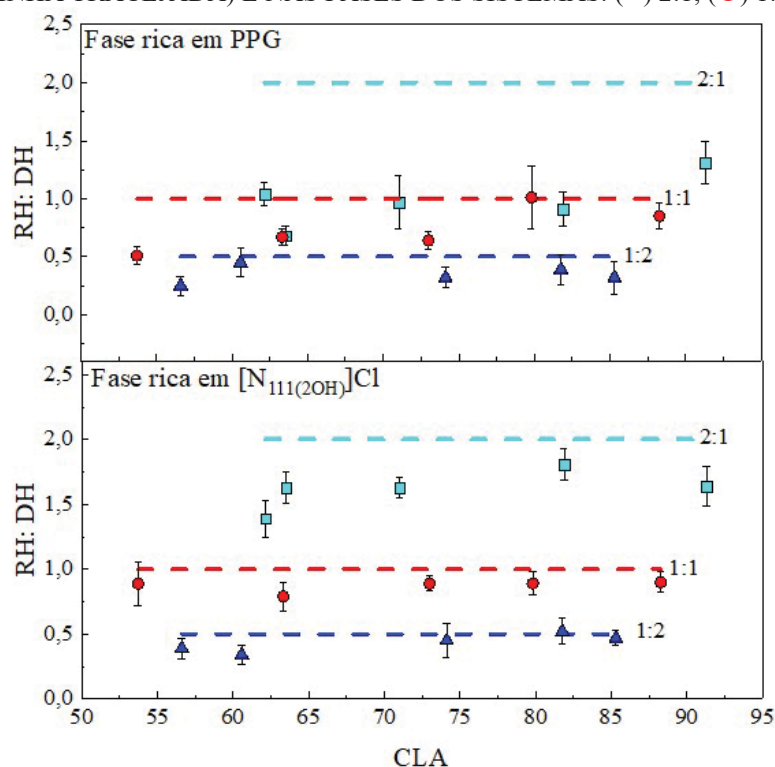
LA	Composição Global / (% m/m)		Fase de topo / (% m/m)				Fase de Fundo / (% m/m)				CLA
	[1]	[5]	[1]	[2]	[3]	[4]	[1]	[2]	[3]	[4]	
[N _{111(2OH)}]Cl: glucose (2:1) + PPG 400 + H ₂ O											
1	14,0	33,0	0,3	0,4	80,1	19,2	9,8	9,1	19,3	61,8	62,2
2	15,0	35,0	0,3	0,5	80,7	18,5	11,2	8,9	18,7	61,2	63,5
3	17,5	37,0	0,3	0,4	82,4	16,9	14,3	11,4	13,6	60,7	71,0
4	20,0	40,0	0,2	0,3	86,9	12,6	20,4	14,5	8,8	56,3	81,9
5	22,5	45,0	0,4	0,4	85,7	13,6	25,9	20,4	0,4	53,3	91,3
[N _{111(2OH)}]Cl: glucose (1:1) + PPG 400 + H ₂ O											
1	14,0	33,0	0,5	1,1	77,3	21,1	6,6	9,6	24,6	59,2	53,7
2	15,0	35,0	0,3	0,7	79,0	20,0	8,4	14,7	17,6	59,3	63,3
3	17,5	37,0	0,2	0,4	83,0	16,4	10,3	14,8	12,1	62,8	73,0
4	20,0	40,0	0,3	0,4	85,3	14,0	14,4	21,0	9,5	55,1	79,8
5	22,5	45,0	0,3	0,5	86,3	12,9	17,9	25,8	3,6	52,7	85,3
[N _{111(2OH)}]Cl: glucose (1:2) + PPG 400 + H ₂ O											
1	14,0	33,0	0,3	1,6	76,1	22,0	4,4	14,6	21,2	59,9	56,6
2	15,0	35,0	0,4	1,2	77,5	20,9	4,3	16,4	19,0	60,3	60,6
3	17,5	37,0	0,2	0,7	82,1	17,0	6,9	19,9	10,8	62,4	74,1
4	20,0	40,0	0,1	0,5	86,2	13,1	9,9	24,6	8,8	56,7	81,7
5	22,5	45,0	0,2	0,8	84,5	14,5	11,6	31,5	5,8	51,1	85,3

^a As incertezas padrão (u) são $u(m) = 0,1 \%$, $u(T) = 0,2 \text{ } ^\circ\text{C}$ e $u(P) = 10 \text{ kPa}$.

Fonte: A Autora (2018)

Para todos os sistemas quaternários cujo os dados estão apresentados na TABELA 11 a fase de topo é sempre composta por uma alta concentração do polímero (PPG 400) ($> 76 \% \text{ m/m}$), sendo portanto denominada de fase rica em PPG. Da mesma forma, a fase de fundo destes sistemas é composta primordialmente por água ($> 50 \% \text{ m/m}$) e apresenta uma alta concentração de $[\text{N}_{111}(\text{2OH})]\text{Cl}$ e glucose, sendo chamada de fase rica em cloreto de colina ($[\text{N}_{111}(\text{2OH})]\text{Cl}$). Este comportamento se repetiu para todas as linhas de amarração independente da razão molar de $[\text{N}_{111}(\text{2OH})]\text{Cl}$: glucose utilizada ou mesmo do comprimento da linha de amarração (CLA). As razões molares entre o receptor de hidrogênio (RH) e o doador de hidrogênio (DH) para ambas fases e para todas as linhas de amarração foram calculadas e apresentadas na FIGURA 15.

FIGURA 15 – RAZÃO MOLAR ENTRE O $[\text{N}_{111}(\text{2OH})]\text{Cl}$ (RH) E A GLUCOSE (DH) NA MISTURA INICIAL (LINHA TRACEJADA) E NAS FASES DOS SISTEMAS: (■) 2:1; (●) 1:1 E (▲) 1:2.



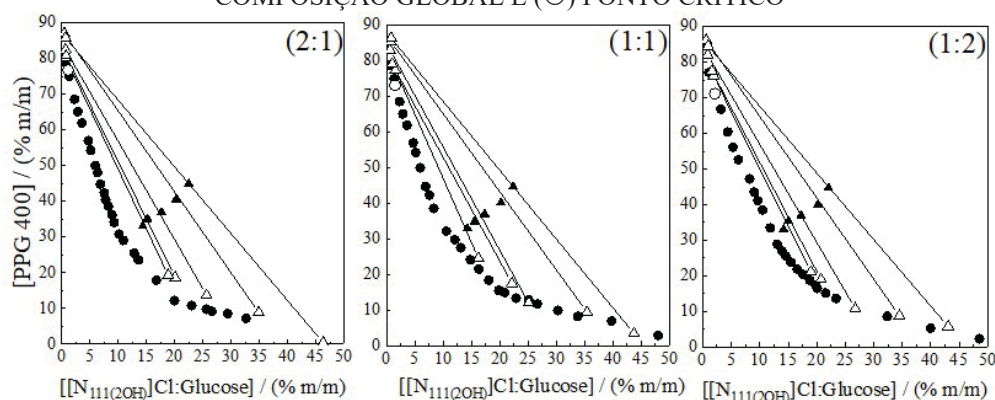
Fonte: A Autora (2018)

Pela análise da FIGURA 15 foi possível observar uma boa concordância entre a razão molar RH: DH na mistura inicial do DES e na fase rica em $[\text{N}_{111}(\text{2OH})]\text{Cl}$, principalmente com o aumento do comprimento da linha de amarração. Entretanto esta razão molar sofre maior variação na fase rica em polímero, pois o aumento da concentração de polímero reduz a solubilidade das moléculas doadoras e receptoras de hidrogênio nessa fase e faz com que as mesmas se concentrem na outra fase. Desta forma,

a maior concentração de $[N_{111(2OH)}]Cl$ e glucose estará na mesma fase e consequentemente a estequiometria é mantida. As diferenças mais significativas entre a razão molar RH:DH na fase rica em polímero se deram para a razão molar 2:1. Nesta razão molar, ocorre uma partição quase total dos componentes do DES para a fase rica em $[N_{111(2OH)}]Cl$ e consequentemente, concentrações muito pequenas de doador e receptor de hidrogênio permanecem na fase rica em polímero, o que acaba por induzir maiores desvios na razão molar dos componentes do DES nessa fase.

Considerando, que os SDFA baseados em DES são de fato sistemas quaternários estes devem ser representados em diagramas tridimensionais, os quais consideram os quatro componentes de maneira individual. Nos sistemas aqui estudados verificou-se que a estequiometria entre doador e receptor de hidrogênio se manteve de modo que a representação pseudo-ternária pode ser suficiente para representar estes sistemas de maneira mais simples em relação a representação tridimensional. Desta forma, optou-se por fornecer ambas as representações, FIGURAS 16 e 17. Na representação pseudo-ternária, FIGURA 16, é possível observar que o aumento do comprimento da linha de amarração apresenta maior impacto na fase rica em $[N_{111(2OH)}]Cl$, na qual nota-se uma redução do teor de água e aumento das concentrações de $[N_{111(2OH)}]Cl$ e glucose de forma significativa. Por outro lado, a fase rica em polímero é pouco afetada. Este comportamento também é descrito pelo ponto crítico de cada sistema, o qual possui altas concentrações de PPG 400 ($> 70\%$ m/m) e baixa concentração de $[N_{111(2OH)}]Cl$:glucose ($< 2,1\%$ m/m).

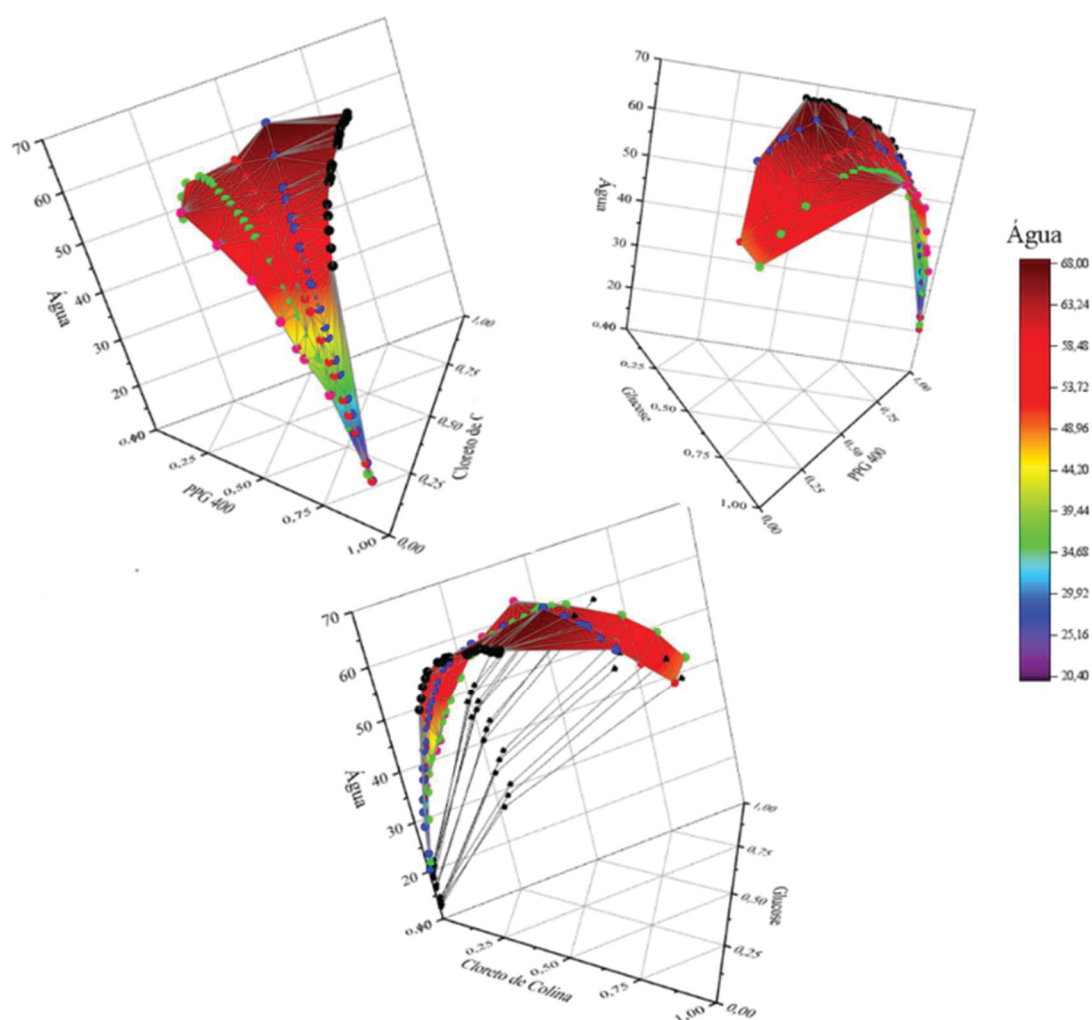
FIGURA 16 – REPRESENTAÇÃO PSEUDO-TERNÁRIA DOS DIAGRAMAS DE FASES DOS SISTEMAS $[N_{111(2OH)}]Cl$ + glucose + PPG + H_2O A $25^\circ C$ EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{111(2OH)}]Cl$: GLUCOSE. (●) CURVA BINODAL, (△) LINHAS DE AMARRAÇÃO, (▲) COMPOSIÇÃO GLOBAL E (○) PONTO CRÍTICO



Fonte: A Autora (2018)

Passos et al. (2016) propuseram o uso do mesmo polímero (PPG 400) na formação de SDFA com DES compostos por $[N_{111}(2OH)]Cl$ e ácidos carboxílicos, e $[N_{111}(2OH)]Cl$ e ureia. Estes autores verificaram que os DES que possuíam ácidos carboxílicos em sua composição tinham sua estrutura perdida pois uma partição não estequiométrica dentre doador e receptor de hidrogênio foi observada nas fases destes sistemas. Enquanto que, quando a ureia foi utilizada como doador de hidrogênio o DES tornou-se aparentemente estável em SDFA (PASSOS; TAVARES; FERREIRA; et al., 2016).

FIGURA 17 - REPRESENTAÇÃO TRIDIMENSIONAL DOS SISTEMAS QUATERNÁRIOS $[N_{111}(2OH)]Cl$ + GLUCOSE + PPG 400 + H_2O A DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{111}(2OH)]Cl$: GLUCOSE: (●) 2:1, (●) 1:1 E (●) 1:2 E PARA OS SISTEMAS TERNÁRIOS (●) $[N_{111}(2OH)]Cl$ + PPG 400 + H_2O E (●) GLUCOSE + PPG 400 + H_2O .



Fonte: A Autora (2018)

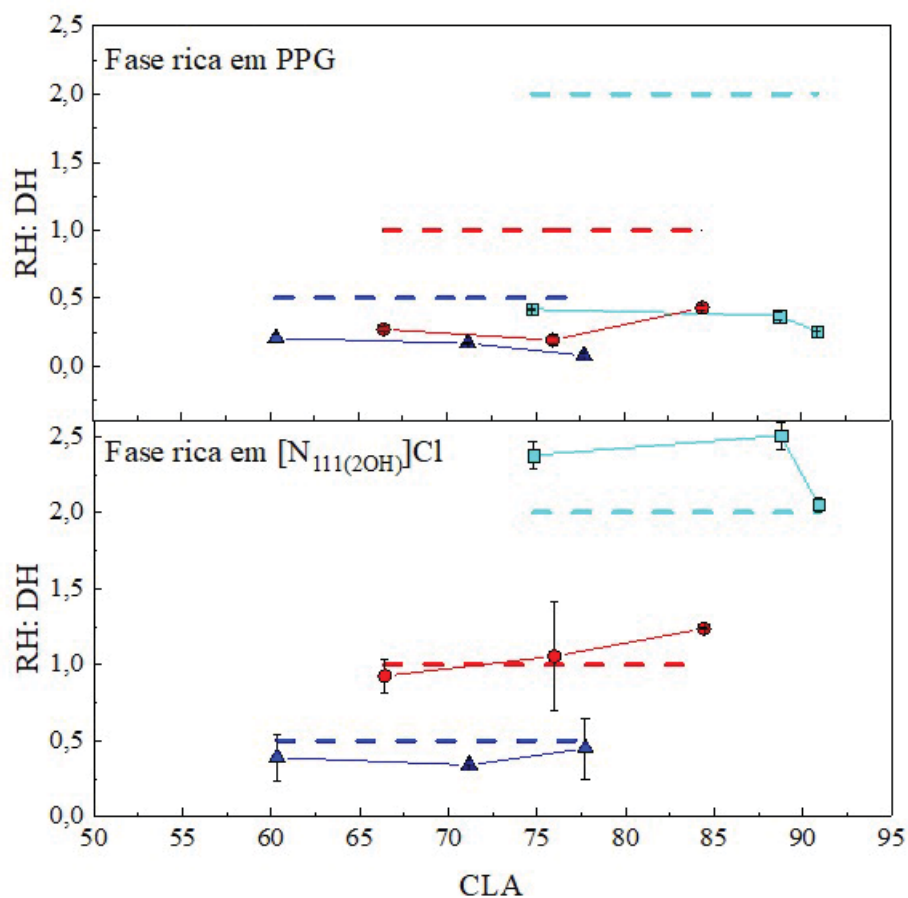
Nos resultados apresentados no Capítulo 4 verificou-se que a obtenção de SDFA compostos pelo DES $[N_{111}(2OH)]Cl$: glucose e o sal K_2HPO_4 , a formação das fases é resultante do efeito *salting-out* provocado pelo sal sobre o $[N_{111}(2OH)]Cl$, de modo que a glucose apresentou baixo impacto no diagrama de fases sendo considerado um aditivo ao sistema. Este fato pode ser explicado devido a caráter mais hidrofílico que a molécula da glucose possui ($\log K_{OW} = -2,93$) que faz com que esta seja preferencialmente particionada para a fase rica em sal e desta forma a estequiometria $[N_{111}(2OH)]Cl$: glucose não se mantém (FARIAS; SOSA; IGARASHI-MAFRA; et al., 2017).

Nos sistemas aqui avaliados, o $[N_{111}(2OH)]Cl$ e a glucose demonstram um efeito *salting-out* sobre o PPG, dando origem a uma fase relativamente mais hidrofóbica, a qual é composta predominantemente pelo polímero. Esse comportamento promove a partição dos compostos formadores dos DES para a fase hidrofílica, preservando a sua estequiometria inicial. Os resultados obtidos neste trabalho indicam que a baixa solubilidade dos compostos formadores dos DES na fase rica em polímero é o fator determinante para que a estequiometria do DES aplicado em SDFA seja mantida, e não uma maior estabilidade deste DES na presença de água como proposto previamente por Passos et al. (2016).

Com a finalidade de confirmar a hipótese aqui proposta, três linhas de amarração de cada razão molar $[N_{111}(2OH)]Cl$: ureia proposta por Passos et al. (2016) foram obtidas também neste trabalho, nas quais a relação receptor: doador de hidrogênio nas fases foi avaliada. Foram estudados sistemas com as seguintes composições globais: 17,5 % de DES e 37,0 % de PPG (LA1), 20,0 % de DES e 40,0 % de PPG (LA2) e 22,5 % de DES e 45 % de PPG (LA3). As razões RH: DH para o sistema com ureia apresentaram o mesmo comportamento do sistema quaternários $[N_{111}(2OH)]Cl$ + glucose + PPG 400 + H_2O , o que era esperado devido ao caráter hidrofílico da ureia ($\log(K_{OW}) = -1.36$), como podem ser observadas na FIGURA 18.

Sendo assim, os resultados aqui reportados sugerem a obtenção de SDFA formados por DES com comportamento pseudo-ternários, quando formados por DES, os quais não são dependentes exclusivamente das características das moléculas formadores das fases (sal ou polímero), mas também sofre influência direta da natureza do doador de hidrogênio presente no DES. Os valores das razões molares entre doador e receptor de hidrogênio apresentadas nas FIGURAS 15 e 18 estão também apresentados no APÊNDICE D.

FIGURA 18 – RAZÃO MOLAR ENTRE O $[N_{111(2OH)}]Cl$ (RH) E UREIA (DH) NA MISTURA INICIAL (LINHA TRACEJADA) E NAS FASES DOS SDFA ESTUDADOS: (■) 2:1; (●) 1:1 E (▲) 1:2.



Fonte: A Autora (2018)

5.2. Modelagem Termodinâmica

O modelo NRTL foi utilizado para correlacionar os dados experimentais dos SDFA quaternários $[N_{111(2OH)}]Cl$ + glucose + PPG 400 + H_2O a 25 °C. Os parâmetros de interação binária deste modelo estão na TABELA 15. De maneira geral o modelo foi satisfatório para a representação dos dados experimentais sendo os desvios quadráticos médio (RMSD) inferiores a 1,1 %.

TABELA 12 – PARÂMETROS DO MODELO NRTL PARA O SISTEMA QUATERNÁRIO
 $[N_{111(2OH)}]Cl$ (1) + GLUCOSE (2) + PPG 400 (3) + H_2O (4) EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES
 $[N_{111(2OH)}]Cl$: GLUCOSE

[N ₁₁₁ (2OH)]Cl: GLUCOSE				
Paramêtros (i/j)	A(0)ij	A(0)ji	Alfa(0)ij	RMSD (%)
2:1				
[N ₁₁₁ (2OH)]Cl / glucose	-8927,6	7949,8	0,2000	1,1
[N ₁₁₁ (2OH)]Cl / PPG 400	7154,1	575,5	0,2003	
[N ₁₁₁ (2OH)]Cl / H ₂ O	-1011,1	-9000,0	0,3425	
Glucose / PPG 400	1735,6	-2805,3	0,2517	
Glucose / H ₂ O	-64,1	-5146,7	0,2429	
PPG 400 / H ₂ O	-856,9	2002,7	0,2000	
1:1				
[N ₁₁₁ (2OH)]Cl / glucose	-9000,0	7511,2	0,2122	1,1
[N ₁₁₁ (2OH)]Cl / PPG 400	8730,8	567,2	0,2260	
[N ₁₁₁ (2OH)]Cl / H ₂ O	-1100,5	-8973,5	0,4378	
Glucose / PPG 400	1983,3	-2582,8	0,2000	
Glucose / H ₂ O	-63,5	-5083,7	0,2947	
PPG 400 / H ₂ O	-858,3	1947,1	0,2123	
1:2				
[N ₁₁₁ (2OH)]Cl / glucose	-8192,2	509,0	0,2122	0,9
[N ₁₁₁ (2OH)]Cl / PPG 400	3491,9	1456,3	0,2260	
[N ₁₁₁ (2OH)]Cl / H ₂ O	97,3	-558,9	0,4035	
Glucose / PPG 400	1171,8	-6178,5	0,2000	
Glucose / H ₂ O	-1705,8	-2911,4	0,2947	
PPG 400 / H ₂ O	-874,3	1896,7	0,2121	

Fonte: A Autora (2018)

5.3. Partição de biomoléculas

A potencial aplicação dos SDFA formados por DES na separação e extração de compostos de alto valor agregado, como as proteínas, compostos fenólicos, e corantes têxteis já foi previamente demonstrada por diversos autores (FARIAS; SOSA; IGARASHI-MAFRA; et al., 2017; LI; WANG; XU; et al., 2016; PASSOS; TAVARES; FERREIRA; et al., 2016; XU; WANG; HUANG; et al., 2015; ZENG; WANG; HUANG; et al., 2014; ZHANG; WANG; XU; et al., 2016), Nesta etapa do trabalho, os sistemas avaliados foram aplicados como processo de separação para diferentes biomoléculas de maneira a delinear o efeito da molécula doadora de hidrogênio (glucose) nestes sistemas. Foram avaliados compostos fenólicos (ácido gálico e ácido vanílico), alcaloides (caféina e nicotina) e aminoácidos (L-tirosina, L-triptofano e L-fenilalanina). Foram escolhidas 3 linhas de amarração de diferentes comprimentos (CLA) para cada razão molar do DES avaliado. Os coeficientes de partição foram representados em função do comprimento da linha de amarração (CLA), FIGURA 19, e também em função do log (K_{ow}) de cada biomolécula, FIGURA 20, para que o efeito da hidrofiliicidade/hidrofobicidade destas na separação também fosse avaliada.

Os valores de coeficientes de partição apresentados na FIGURA 19 indicam que grande parte das biomoléculas estudadas se particionam preferencialmente para a fase de fundo destes sistemas ($K > 1$), a qual é rica em $[N_{111}(2OH)]Cl$.

De forma contrária, apenas o ácido gálico, o ácido vanílico e a nicotina se particionaram preferencialmente para a fase rica em PPG ($K \ll 1$). Além disso, o aumento do comprimento da linha de amarração (CLA) favorece a partição de biomoléculas que possuem maior afinidade com a fase mais aquosa e rica em $[N_{111}(2OH)]Cl$. Para as moléculas com $K < 1$ o aumento do CLA reduz o valor de K favorecendo ainda mais a partição deste para a fase mais hidrofóbica, rica em PPG. O efeito da razão molar $[N_{111}(2OH)]Cl$: glucose por sua vez não é tão pronunciado quanto do CLA. Desta forma, independente da razão molar utilizada, o aumento do CLA aumenta o caráter hidrofílico da fase rica em $[N_{111}(2OH)]Cl$ e consequentemente beneficia a partição das biomoléculas com características hidrofílicas. Entretanto, com a redução da razão de $[N_{111}(2OH)]Cl$: glucose na composição global observa-se que o aumento dos valores de K em função do CLA é menor. Em outras palavras, embora os sistemas com uma maior razão de glucose ($\log(K_{OW}) - 2,93$) ainda possua caráter hidrofílico o $[N_{111}(2OH)]Cl$ ($\log(K_{OW}) - 4,66$) é o componente principal que comanda a hidrofobicidade desta fase no sistema. Sendo assim na razão 1:2 $[N_{111}(2OH)]Cl$: glucose o aumento do CLA apresenta menor efeito sobre o coeficiente de partição das biomoléculas avaliadas que as demais frações independentemente da afinidade preferencial destas. Na FIGURA 19 ainda é possível observar que independente da razão molar $[N_{111}(2OH)]Cl$: glucose ou mesmo do comprimento das linhas de amarração avaliadas o a partição destas biomoléculas tem o seguinte padrão: $K(L\text{-triptofano}) > K(L\text{-fenilalanina}) > K(L\text{-tirosina}) > K(\text{caféina}) > K(\text{nicotina}) > K(\text{ácido gálico}) > K(\text{ácido vanílico})$. Esta sequência torna clara a dependência do coeficiente de partição com a hidrofobicidade/ hidrofobicidade de cada biomolécula, a qual foi representada na FIGURA 20, em função dos seus respectivos $\log(K_{OW})$. De maneira geral, a partição preferencial pra a fase mais hidrofílica (rica em $[N_{111}(2OH)]Cl$) é reduzida com o aumento do $\log(K_{OW})$ das moléculas (TABELA 5 e FIGURA 20). Apenas o aminoácido L-triptofano não seguiu o comportamento esperado pelo seu $\log(K_{OW})$ possivelmente devido a interações específicas entre esse aminoácido e o $[N_{111}(2OH)]Cl$, considerando que o K do triptofano diminui com a redução da razão molar de $[N_{111}(2OH)]Cl$ na mistura.

FIGURA 19 – COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) NA FASE RICA EM $[N_{111}(2OH)]Cl$ PARA AS DIFERENTES BIOMOLÉCULAS AVALIADAS NO SISTEMA: $[N_{111}(2OH)]Cl$ + GLUCOSE + PPG 400 + H_2O A DIFERENTES RAZÕES MOLARES $[N_{111}(2OH)]Cl$: GLUCOSE: 2:1 (A), 1:1 (B) E 1:2 (C).

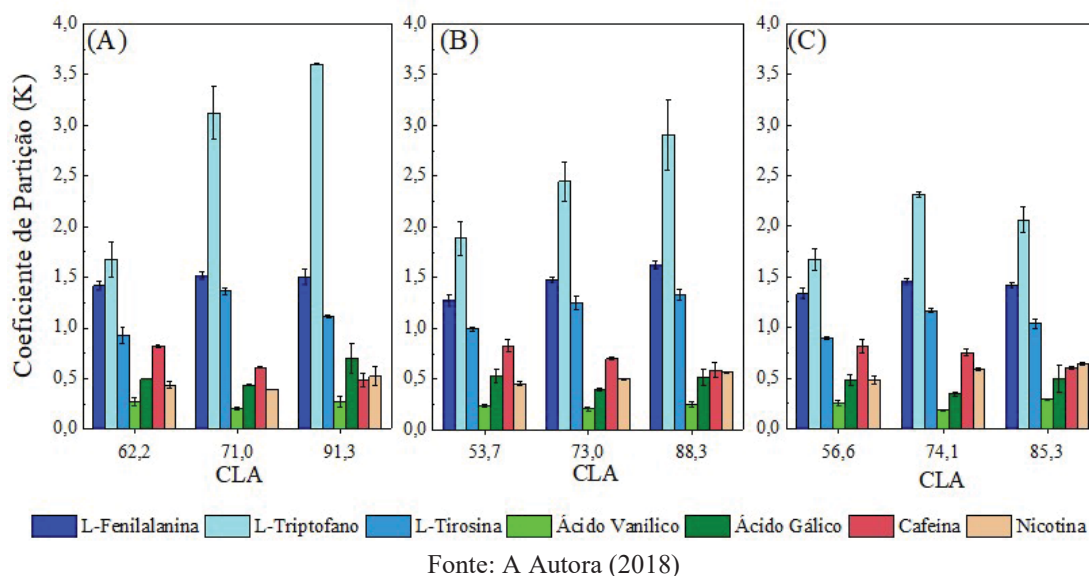
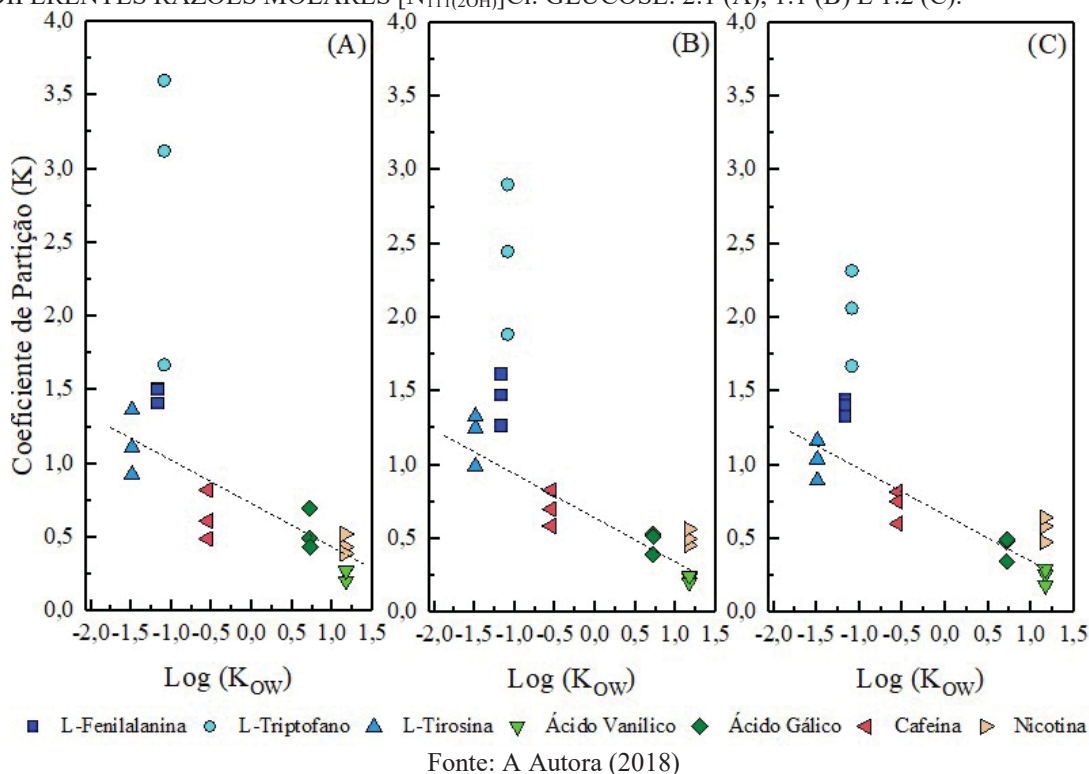
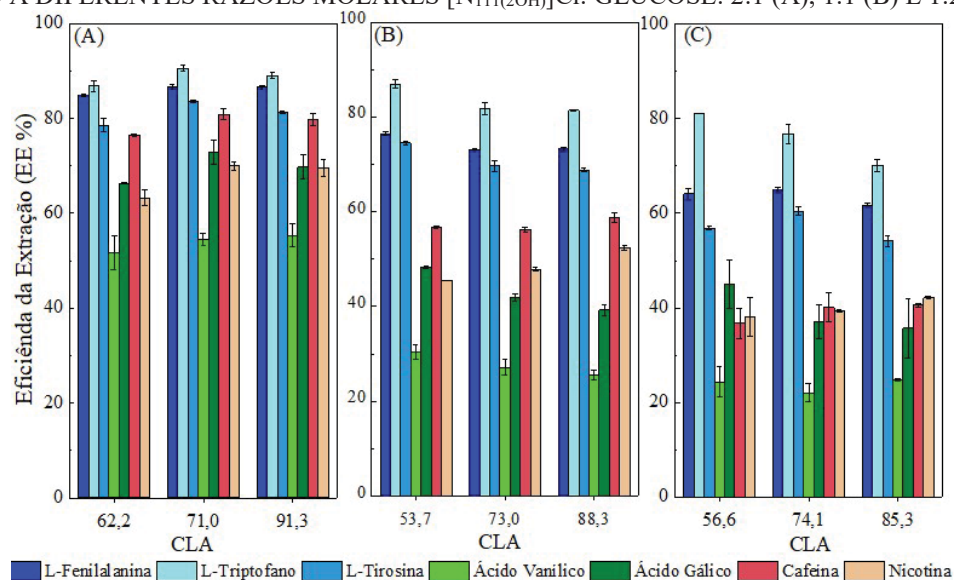


FIGURA 20 – COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) NA FASE RICA EM $[N_{111}(2OH)]Cl$ EM FUNÇÃO DO $\log(K_{OW})$ DAS BIOMOLÉCULAS NO SISTEMA: $[N_{111}(2OH)]Cl$ + GLUCOSE + PPG 400 + H_2O A DIFERENTES RAZÕES MOLARES $[N_{111}(2OH)]Cl$: GLUCOSE: 2:1 (A), 1:1 (B) E 1:2 (C).



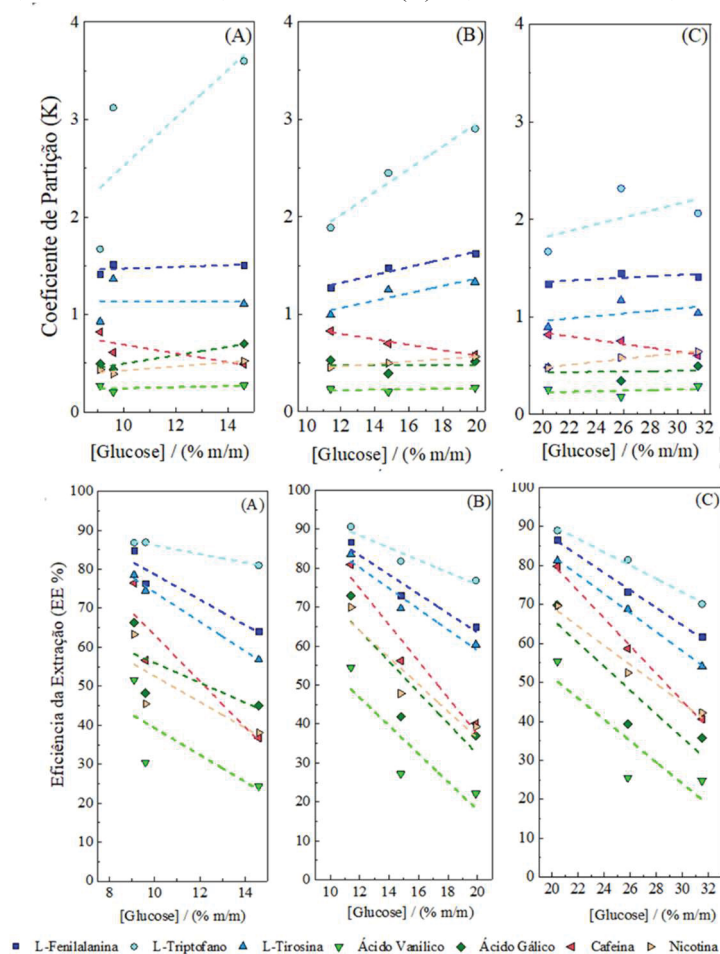
Os resultados relacionados a eficiência de extração (EE %) destes sistemas, como observado na FIGURA 21, seguem os mesmos padrões observados para os coeficientes de partição, onde as moléculas mais hidrofílicas apresentaram EE % para a fase rica em $[N_{111}(2OH)]Cl$ de até aproximadamente 90 %.

FIGURA 21 – EFICIÊNCIA DA EXTRAÇÃO (EE %) NA FASE RICA EM $[N_{111(2OH)}]Cl$ PARA AS DIFERENTES BIOMOLÉCULAS NO SISTEMA: $[N_{111(2OH)}]Cl$ + GLUCOSE + PPG 400 + H_2O A DIFERENTES RAZÕES MOLARES $[N_{111(2OH)}]Cl$: GLUCOSE: 2:1 (A), 1:1 (B) E 1:2 (C).



Fonte: A Autora (2018).

FIGURA 22 – EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE GLUCOSE NO K E EE % DE DIFERENTES BIOMOLÉCULAS NA FASE RICA EM $[N_{111(2OH)}]Cl$ NOS SISTEMAS: (A) 14,5 % DES + 33,0 % de PPG; (B) 17,5 % DE DES + 37,0 % DE PPG E (C) 22,5 % DE DES + 45,0 % DE PPG.



Fonte: A Autora (2018).

O efeito do CLA na eficiência da extração (EE %) das biomoléculas é fortemente dependente do volume das fases do sistema. Independente da razão molar $[N_{111(2OH)}]Cl$: glucose avaliada, o aumento do CLA resulta em um aumento do volume da fase rica em PPG enquanto que a fase mais hidrofílica diminui. Desta forma, a eficiência da extração de moléculas com partição preferencial para a fase mais hidrofílica (fase rica em $[N_{111(2OH)}]Cl$) é reduzida com o aumento do CLA devido a saturação desta fase e consequente aumento da partição destas biomoléculas para a fase oposta (rica em polímero). O efeito da concentração de glucose no coeficiente de partição e na eficiência da extração também pode ser avaliado através de linhas de amarração de mesma composição global e diferentes razões molares da mistura $[N_{111(2OH)}]Cl$: glucose (FIGURA 22).

Como observado na FIGURA 22, o aumento da concentração de glucose na fase rica em $[N_{111(2OH)}]Cl$ possui um efeito quase insignificante no coeficiente de partição da maioria das biomoléculas avaliadas. Entretanto, um pequeno aumento nos valores de K foi observado na extração dos aminoácidos onde o L-Triptofano foi o mais afetado dentre eles. Para os alcaloides, cafeína e nicotina, observou-se um efeito contrário da presença da glucose no K destas moléculas. Enquanto o K da cafeína apresentou uma pequena redução, no caso da nicotina foi observado um leve aumento. Este efeito está de acordo com os valores de $\log(K_{OW})$ destas moléculas (TABELA 5).

Como mencionado anteriormente, a presença da glucose reduz a hidrofilicidade da fase rica em $[N_{111(2OH)}]Cl$ do sistema, e assim considerando que a cafeína possui caráter hidrofílico o aumento da concentração de glucose reduz a partição desta molécula para essa fase. A nicotina, por sua vez, possui caráter hidrofóbico e desta forma sua partição para a fase rica em $[N_{111(2OH)}]Cl$ aumenta.

Com relação à eficiência da extração (EE %), as moléculas mais hidrofóbicas (compostos fenólicos) são as mais afetadas pelo aumento da concentração de glucose, onde observa-se uma extração preferencial destas moléculas para a fase rica em polímero. Além disso, maiores concentrações de glucose reduzem a extração de moléculas hidrofílicas para a fase rica em $[N_{111(2OH)}]Cl$. Todos os valores de coeficiente de partição e eficiência da extração podem ser observados no APÊNDICE E.

Os resultados apresentados indicam que diferentes concentrações dos componentes formadores das fases podem ser utilizadas não só com o intuito de manter a estequiometria entre doador e receptor de hidrogênio, mas também como forma de

alterar o comportamento da partição de uma molécula alvo.

A aplicação dos DES em diferentes processos de extração já está bem estabelecida (DAI; VAN SPRONSEN; WITKAMP; et al., 2013; DAI; WITKAMP; VERPOORTE; CHOI, 2013; DUAN; DOU; GUO; et al., 2016; DURAND; LECOMTE; BARÉA; et al., 2012; PAIVA; CRAVEIRO; AROSO; et al., 2014; SMITH; ABBOTT; RYDER, 2014; SOARES; TAVARES; AMARAL; et al., 2017; WANG; WANG; ZHOU; et al., 2017). Entretanto, a possibilidade de utilizar os DES como componentes formadores das fases de SDFA requer uma atenção quanto a preservação de sua estequiometria inicial nas fases em equilíbrio. Esse aspecto deverá auxiliar na recuperação dos solventes quando da sua utilização em processos de separação e/ou purificação de diversos compostos de alto valor agregado.

5.4. Considerações Finais

Nesta seção foram estudados SDFA compostos por DES + PPG 400 + H₂O onde foram avaliadas diferentes razões molares da mistura [N₁₁₁(2OH)]Cl: glucose. E de maneira contrária ao observado no capítulo anterior e na literatura, foi possível encontrar regiões do diagrama de fases onde a estequiometria entre doador e receptor de hidrogênio do DES se mantiveram nas fases dos sistemas. Com estes resultados foi possível concluir que a natureza das moléculas doadoras (DH) e receptoras de hidrogênio (RH), bem como a natureza dos componentes formadores de fases e sua concentração na composição global são fatores a serem considerados quando se deseja manter a razão molar RH: DH no sistema. Nos sistemas aqui avaliados, de maneira particular, a estequiometria foi mantida em função da hidrofobicidade do polímero (PPG 400) utilizado e da alta hidrofiliabilidade dos compostos formadores do DES ([N₁₁₁(2OH)]Cl e glucose) os quais são pouco solúveis na fase fica em PPG 400.

Estes mesmo fatores podem ser utilizados para alterar a partição de diferentes biomoléculas nas fases destes sistemas, tendo sido demonstrado por meio da avaliação do coeficiente de partição de sete diferentes biomoléculas. Foi possível observar ainda, que além da natureza do DES a concentração do doador de hidrogênio e o comprimento da linha de amarração também são fatores que irão influenciar de maneira direta a partição de diferentes biomoléculas. Sendo assim, pode-se concluir que o mecanismo de partição é guiado primordialmente pela diferença de hidrofobicidade entre as fases.

CAPÍTULO 6 - DES aplicados a SDFA como “*designer solvent*”³

*No Capítulo 6 diferentes misturas compostas por $[N_{111}(2OH)]Cl$ e os álcoois: etanol, *n*-propanol, 1,2-propanodiol e etileno glicol, foram avaliados quanto a sua capacidade agir como “*designer solvent*” na partição de biomoléculas modulando as características das fases dos sistemas.*

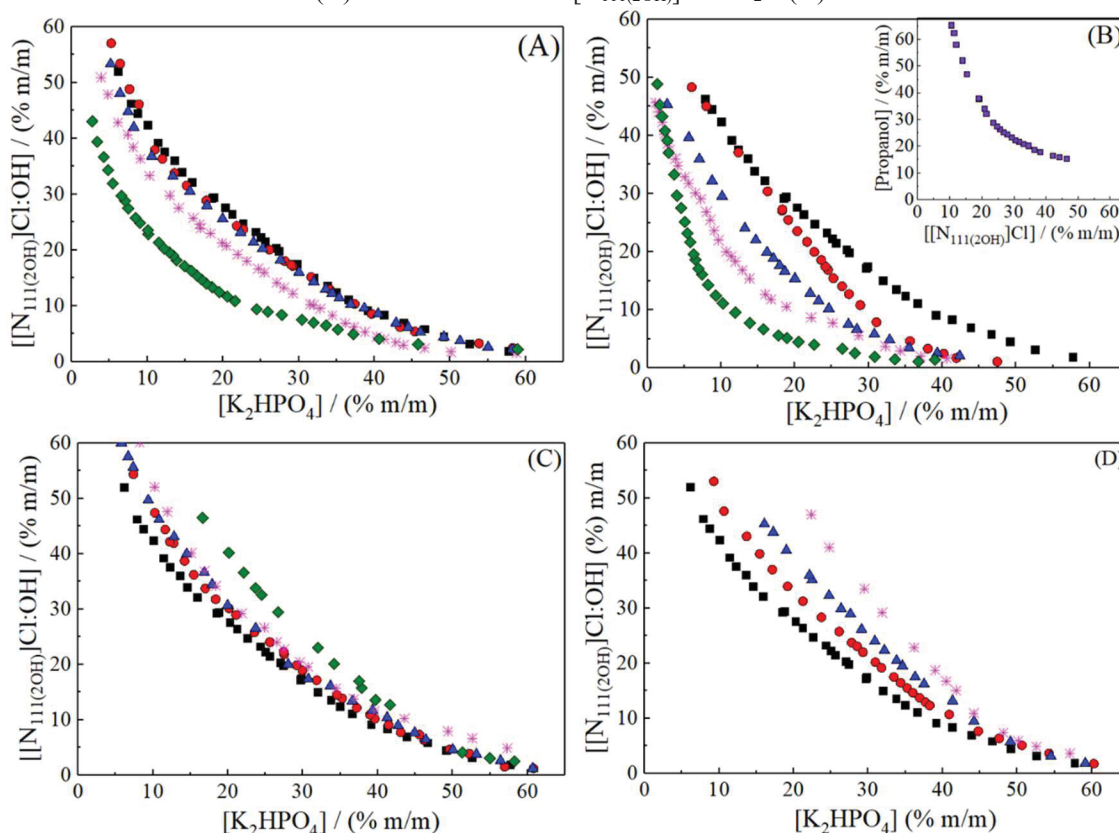
6.1. Dados de equilíbrio líquido-líquido

Os álcoois etanol, *n*-propanol, 1,2-propanodiol e etileno glicol foram utilizados como moléculas doadoras de hidrogênio em misturas eutéicas $[N_{111}(2OH)]Cl$: álcool a diferentes razões molares (2:1, 1:1 e 1:2). O uso do álcool como quarto componente teve com principal função alterar as propriedades do sistema. Para avaliar este efeito, foram obtidos os diagramas de fases para os sistemas ternários e quaternários, compostos por $[N_{111}(2OH)]Cl$, álcool (OH) e K_2HPO_4 . As curvas binodais destes sistemas podem ser observadas na FIGURA 23. As frações mássicas correspondentes as curvas binodais estão disponíveis no APÊNDICE A.

Todos os álcoois avaliados apresentaram efeito sobre a região bifásica em relação ao sistema ternário $[N_{111}(2OH)]Cl + K_2HPO_4 + H_2O$, como observado na FIGURA 23. A influência da concentração e natureza do álcool apresentou um efeito significativo sobre as curvas binodais. Sobre a natureza do álcool, numa mesma razão molar $[N_{111}(2OH)]Cl$: OH, a capacidade destes em formar SDFA com o sal (K_2HPO_4) ocorreu na seguinte ordem: propanol > etanol > $[N_{111}(2OH)]Cl$ (sem álcool) > 1,2-propanodiol > etileno glicol. Na FIGURA 23 se torna ainda evidente o comportamento diferenciado dos mono álcoois (etanol e *n*-propanol) e os di álcoois (1,2-propanodiol e etileno glicol), onde a presença dos mono álcoois aumenta a região bifásica (FIGURA 23A-B) enquanto que a presença dos di álcoois reduz essa região bifásica (FIGURA 23C-D) em relação ao sistema ternário $[N_{111}(2OH)]Cl + K_2HPO_4 + H_2O$. Observa-se que tais efeitos tornam-se mais evidentes com o aumento das concentrações dos álcoois na mistura: $[N_{111}(2OH)]Cl$: OH.

³Os resultados apresentados neste capítulo foram baseados no manuscrito publicado: FARIAS, F. O.; PASSOS, H.; SANGLARD, M. G.; IGARASHI-MAFRA, L.; COUTINHO, J. A. P.; MAFRA, M. R. Designer solvent ability of alcohols in aqueous biphasic systems composed of deep eutectic solvents and potassium phosphate. *Separation and Purification Technology*, v. 200, p. 84-93, 2018

FIGURA 23 - DIAGRAMA DE FASES A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA DOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{111}(2OH)]Cl:OH$, K_2HPO_4 E H_2O PARA DIFERENTES ALCOOIS: ETANOL (A), PROPANOL (B), 1,2-PROPANODIOL (C) E ETILENO GLICOL (D) A DIFERENTES RAZÕES MOLARES – 2:1 (●) 1:1 (▲) E 1:2 (*) E PARA OS SISTEMAS TERNÁRIOS $OH + K_2HPO_4 + H_2O$ (◆) E n -PROPANOL + $[N_{111}(2OH)]Cl + H_2O$ (■)



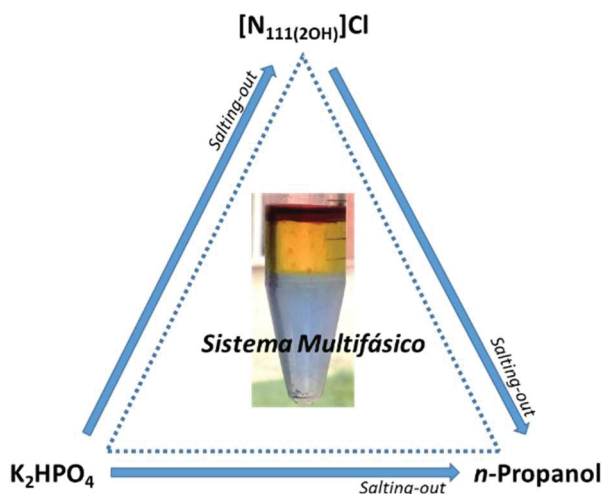
Fonte: A Autora (2018)

Sabe-se que a formação dos SDFA se dá em recorrência da competição de diferentes espécies (os solutos) pela formação de complexos de hidratação. Desta forma a habilidade de determinado composto em induzir a formação das fases está diretamente relacionada à natureza química do mesmo (FREIRE; CLÁUDIO; ARAÚJO; et al., 2012). No sistema ternário constituído pelos dois sais ($[N_{111}(2OH)]Cl$ e K_2HPO_4) a competição pelos complexos de hidratação é comandada pela alta densidade de carga dos íons do sal fosfato, o qual tem grande afinidade com a água, resultando em *salting-out* do $[N_{111}(2OH)]Cl$ para uma nova fase. Quando adiciona-se um quarto componente ao sistema, nesse caso os álcoois, notam-se alterações na intensidade deste efeito (HU; WANG; LI; et al., 2008; LI; YANG; ZHANG; et al., 2017; PEREIRA; LIMA; FREIRE; COUTINHO, 2010). Neste âmbito, observa-se uma clara relação entre a influência da natureza do álcool sobre a curva binodal, e a relação hidrofobicidade/ hidrofiliicidade destes álcoois nos sistemas aqui estudados, característica relacionada ao $\log K_{OW}$ destes compostos ($\log K_{OW \text{ propanol}} = 0,36$; $\log K_{OW \text{ etanol}} = -0,16$; $\log K_{OW \text{ 1,2-propanodiol}} = -0,79$ e $\log K_{OW \text{ etileno glicol}} =$

-1,21). Quando adicionamos os álcoois de maior caráter hidrofílico (1,2-propanodiol e etileno glicol) estes acabam por interagir fortemente com a água dificultando a formação do SDFA. Por outro lado, os álcoois de maior caráter hidrofóbico (etanol e *n*-propanol) agem de forma a facilitar a formação do SDFA, efeito esse confirmado pela habilidade e destes álcoois em formar SDFA com o sal K_2HPO_4 mesmo na ausência do $[N_{111}(2OH)]Cl$. Reforçando a grande influência da natureza das moléculas na obtenção do SDFA, verificou-se ainda que o *n*-propanol, composto mais hidrofóbico aqui avaliado, apresentou uma região bifásica significativamente maior em relação aos demais álcoois avaliados, enquanto que o etileno glicol, componente mais hidrofílico, não foi capaz de formar SDFA na ausência do $[N_{111}(2OH)]Cl$. Esta habilidade dos mono álcoois em formar sistemas bifásicos está de acordo com dados previamente reportados na literatura (LI; ZHAO; HUANG; et al., 2015; WANG; YAN; HU; et al., 2009).

O sistema quaternário $[N_{111}(2OH)]Cl + n\text{-propanol} + K_2HPO_4 + H_2O$ apresenta uma característica diferenciada em relação aos demais sistemas, uma vez regiões trifásicas são observadas no seu diagrama de fases. Além disso, dentre todos os álcoois aqui avaliados o *n*-propanol é o único capaz de formar SDFA quando misturado a uma solução aquosa de $[N_{111}(2OH)]Cl$ na ausência do sal fosfato (FIGURA 23). Em 2017, Passos e colaboradores definiram que para a ocorrência de um sistema com mais de duas fases em equilíbrio, denominados sistemas multifásicos (MuPS), é necessária a ocorrência de um efeito *salting-out* triplo (PASSOS; COSTA; FERNANDES; et al., 2017). Nos sistemas aqui avaliados, pode se destacar que embora o sal quaternário de amônio, $[N_{111}(2OH)]Cl$, apresente baixa habilidade em causar *salting-out*, este ainda é capaz de gerar a exclusão de moléculas mais hidrofóbicas como é o caso do álcool *n*-propanol. Sendo assim, para o sistema quaternário $[N_{111}(2OH)]Cl + n\text{-propanol} + K_2HPO_4 + H_2O$ três diferentes eventos de *salting-out* ocorrem de forma simultânea: do $[N_{111}(2OH)]Cl$ sobre o *n-propanol*, do K_2HPO_4 sobre o $[N_{111}(2OH)]Cl$ e do K_2HPO_4 sobre o *n-propanol*, permitindo a formação de um sistema multifásico, conforme esquematizado na FIGURA 24.

FIGURA 24 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO EFEITO *Salting-out* EM SISTEMAS MULTIFÁSICOS



Fonte: A Autora (2018)

Para cada razão molar ($[N_{111(2OH)}]Cl: OH$) obteve-se uma linha de amarração bem como para os sistemas ternários: $[N_{111(2OH)}]Cl/OH + K_2HPO_4 + H_2O$. A composição das fases de cada linha de amarração foi obtida de maneira analítica e os resultados estão apresentados na TABELA 13.

TABELA 13 – DADOS EXPERIMENTAIS DE ELL PARA OS SDFA A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA: (1) K_2HPO_4 ; (2) $[N_{111(2OH)}]Cl$; (3) ÁLCOOL; (4) H_2O E (5) $[N_{111(2OH)}]Cl:OH$ ^a

Razão molar de OH na mistura [N _{(111(2OH))}]Cl:OH	Composição Global (% m/m)		Fase de topo(% m/m)				Fase de Fundo(% m/m)				CLA
	[1]	[2 ou 5]	[1]	[2]	[3]	[4]	[1]	[2]	[3]	[4]	
[N _{(111(2OH))}]Cl + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O											
--	30	25	6,7	50,4	--	42,9	6,7	50,4	--	42,9	73,4
--	40	20	3,1	57,6	--	39,3	3,1	57,6	--	39,3	75,6
[N _{(111(2OH))}]Cl:Etanol + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O											
0,33	30	25	6,5	42,3	6,1	45,1	51,4	2,0	0,1	46,5	70,8
0,50			7,7	37,6	10,7	44,0	46,3	2,3	0,3	51,1	65,4
0,67			1,6	34,1	21,4	42,9	51,4	2,6	0,0	46,0	65,3
1,00			1,6	-	65,2	33,9	46,1	-	1,1	52,8	79,9
[N _{(111(2OH))}]Cl:n-propanol + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O											
0,50	25	20	2,6	4,9	79,1	13,9	27,1	14,7	1,7	69,8	83,4
0,67			1,0	4,6	80,1	14,3	25,8	14,2	2,4	57,6	82,8
1,00			1,0	-	77,9	21,1	33,4	-	1,0	65,6	84,2
[N _{(111(2OH))}]Cl:1,2-propanodiol + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O											
0,33	40	20	4,4	50,6	12,8	32,2	54,9	3,1	1,6	40,4	76,8
0,50			6,6	35,6	22,9	34,9	54,8	2,4	1,8	41,0	72,9
0,67			6,9	26,8	29,1	37,2	53,8	2,8	0,8	42,6	71,2
1,00			14,4	-	53,8	31,8	52,3	-	3,0	44,7	84,2
[N _{(111(2OH))}]Cl: etileno glicol + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O											
0,33	40	20	6,7	48,9	8,7	35,7	51,9	3,1	3,1	41,9	74,6
0,50			10,0	48,5	7,9	33,6	51,2	1,2	5,3	42,3	77,4
0,67			21,0	21,4	28,8	28,8	45,0	7,8	4,2	43,0	71,7

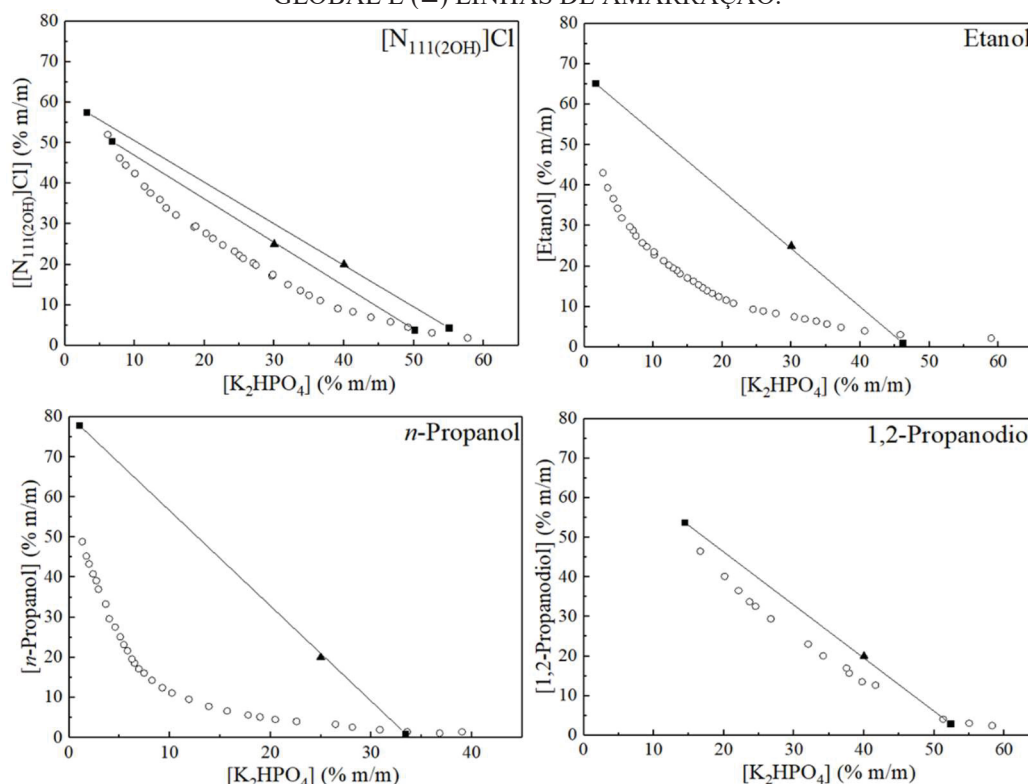
^a As incertezas padrão (u) são $u(m) = 0,1 \%$, $u(T) = 0,2 \text{ } ^\circ\text{C}$ e $u(P) = 10 \text{ kPa}$.

Fonte: A Autora (2018)

De maneira geral, para todos os sistemas avaliados, as fases de fundo são compostas predominantemente pelo sal K_2HPO_4 , enquanto que, nas fases de topo se encontram as maiores concentrações de $[N_{111}(2OH)]Cl$. Os sistemas contendo *n*-propanol por sua vez apresentaram um comportamento distinto, onde a fase de topo é rica em propanol enquanto que, o $[N_{111}(2OH)]Cl$ está em sua grande parte na fase de fundo juntamente com o K_2HPO_4 . Este é mais um indicativo da maior habilidade do sal em causar *salting-out* sobre este álcool em comparação com a sua habilidade em excluir as moléculas de $[N_{111}(2OH)]Cl$, como previamente observado na FIGURA 23B. Todas as linhas de amarração descritas estão representadas nas FIGURAS 25 a 29. Sempre que possível a representação pseudo-ternária foi utilizada, pequenos desvios podem ser observados recorrentes da combinação das técnicas analíticas utilizadas.

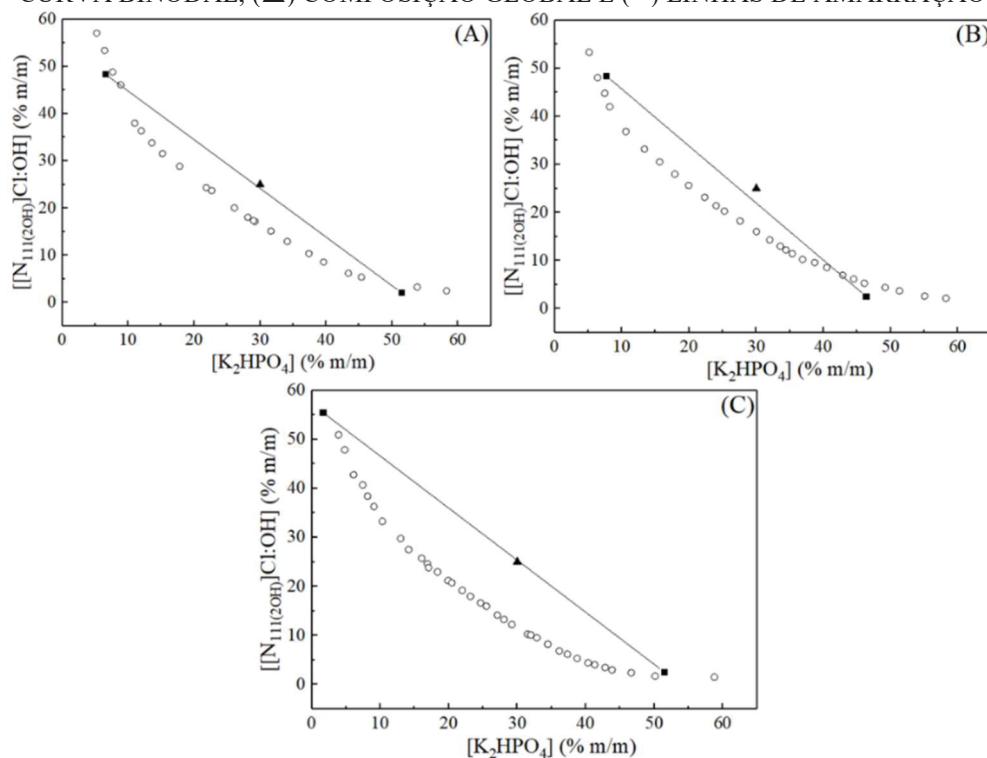
Os sistemas quaternários contendo *n*-Propanol, como discutido anteriormente apresentam comportamento diferenciado dos demais, sendo que a representação pseudo-ternária não pode ser utilizada para representá-lo. Desta forma, para este sistema apenas a representação tridimensional foi fornecida. Para esses sistemas um ponto na região trifásica foi obtido composto por: 20 % (m/m) de $[N_{111}(2OH)]Cl$: propanol (razão molar 1:1), 30 % (m/m) de K_2HPO_4 e 50 % (m/m) de H_2O . As composições obtidas para as fases destes sistemas estão apresentadas a seguir e foram representados na forma de superfície (superfície verde) no diagrama tridimensional do sistema (FIGURA 29): Fase de topo (rica em *n*-propanol): 84,0 % de *n*-propanol, 6,1 % de $[N_{111}(2OH)]Cl$, 0,5 % de K_2HPO_4 e 9,4 % de H_2O . Fase intermediária (rica em $[N_{111}(2OH)]Cl$): 8,3 % de *n*-propanol, 41,2 % de $[N_{111}(2OH)]Cl$, 2,2 % de K_2HPO_4 e 48,3 % de H_2O . Fase de fundo (rica em K_2HPO_4): 0,1 % de *n*-propanol, 3,8 % de $[N_{111}(2OH)]Cl$, 45,6 % de K_2HPO_4 e 50,5 % de H_2O .

FIGURA 25 – DIAGRAMAS DE FASES DOS SISTEMAS TERNÁRIOS: $[N_{111(2OH)}]Cl / OH + K_2HPO_4 + H_2O$ A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. (○) CURVA BINODAL, (▲) COMPOSIÇÃO GLOBAL E (■) LINHAS DE AMARRAÇÃO.



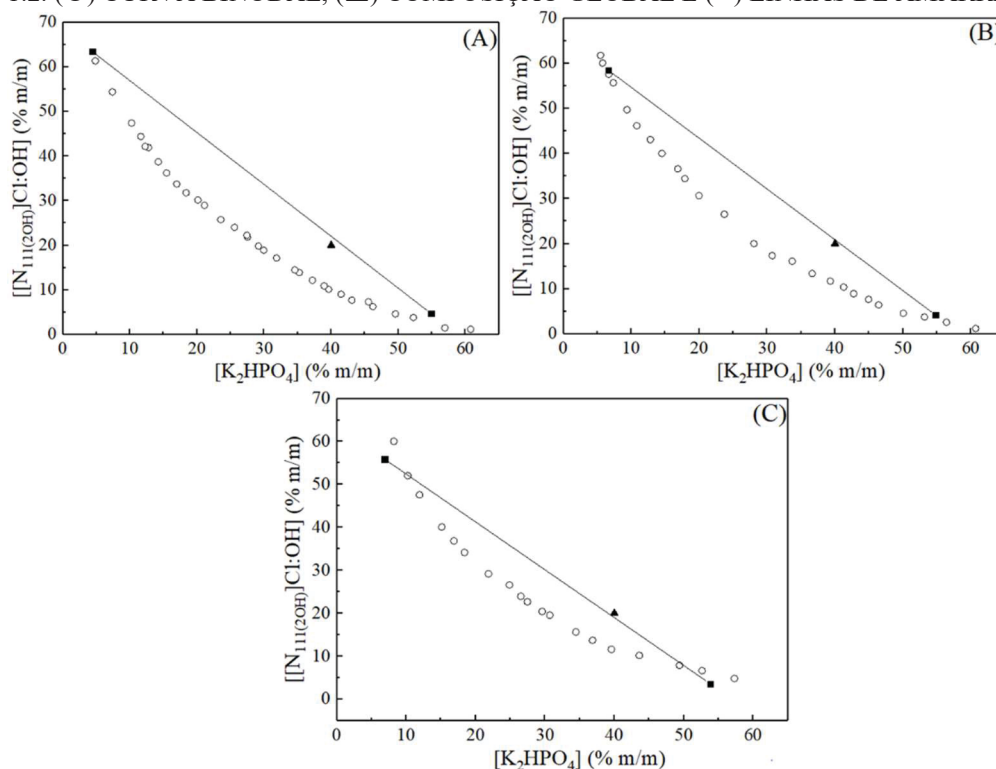
Fonte: A Autora (2018)

FIGURA 26 – REPRESENTAÇÃO PSEUDO-TERNÁRIA DOS DIAGRAMAS DE FASES DOS SISTEMAS $[N_{111(2OH)}]Cl + ETANOL + K_2HPO_4 + H_2O$ A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $N_{111(2OH)}]Cl$: ETANOL: (A) 2:1; (B) 1:1 E (C) 1:2. (○) CURVA BINODAL, (▲) COMPOSIÇÃO GLOBAL E (■) LINHAS DE AMARRAÇÃO



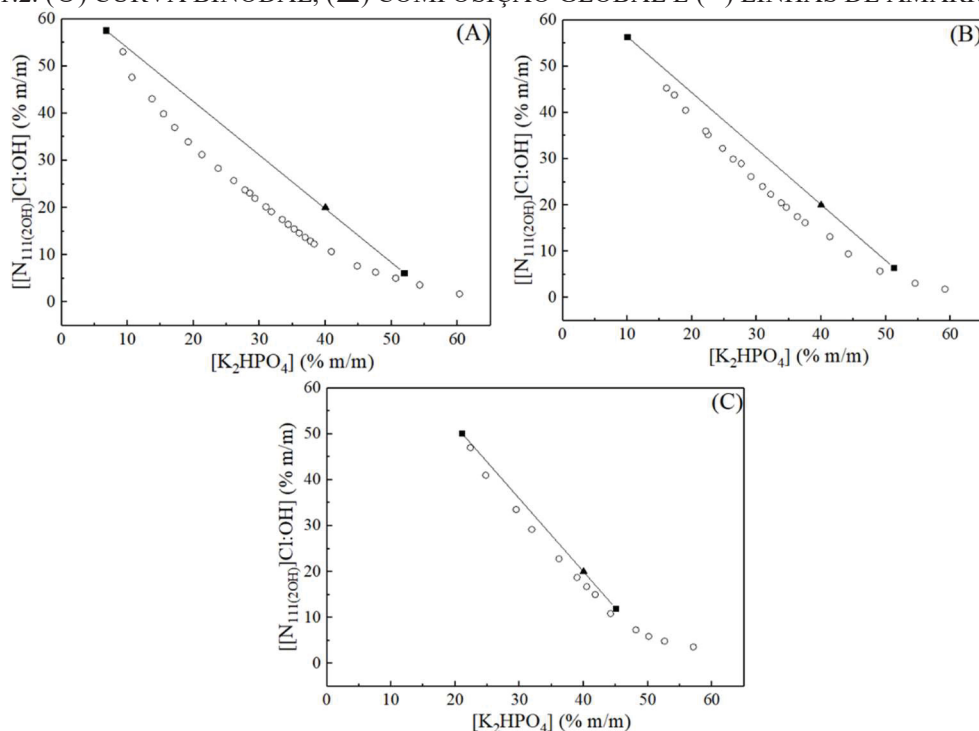
Fonte: A Autora (2018)

FIGURA 27 – REPRESENTAÇÃO PSEUDO-TERNÁRIA DOS DIAGRAMAS DE FASES DOS SISTEMAS $[N_{111(2OH)}]Cl + 1,2\text{-PROPANODIOL} + K_2HPO_4 + H_2O$ A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $N_{111(2OH)}]Cl$: ETANOL: (A) 2:1; (B) 1:1 E (C) 1:2. (○) CURVA BINODAL, (▲) COMPOSIÇÃO GLOBAL E (■) LINHAS DE AMARRAÇÃO.



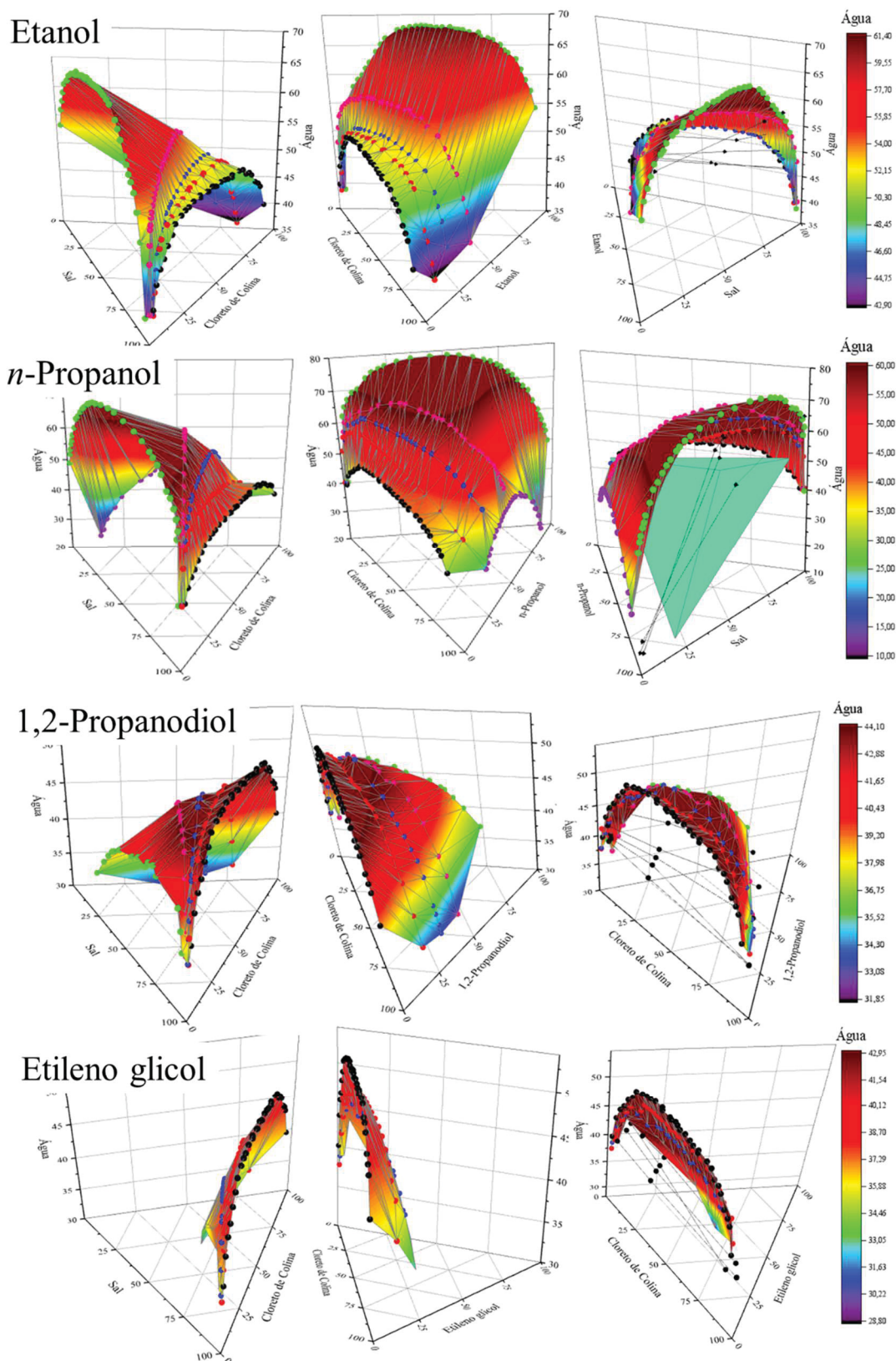
Fonte: A Autora (2018)

FIGURA 28 – REPRESENTAÇÃO PSEUDO-TERNÁRIA DOS DIAGRAMAS DE FASES DOS SISTEMAS $[N_{111(2OH)}]Cl + 1,2\text{-PROPANODIOL} + K_2HPO_4 + H_2O$ A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $N_{111(2OH)}]Cl$: ETANOL: (A) 2:1; (B) 1:1 E (C) 1:2. (○) CURVA BINODAL, (▲) COMPOSIÇÃO GLOBAL E (■) LINHAS DE AMARRAÇÃO.



Fonte: A Autora (2018)

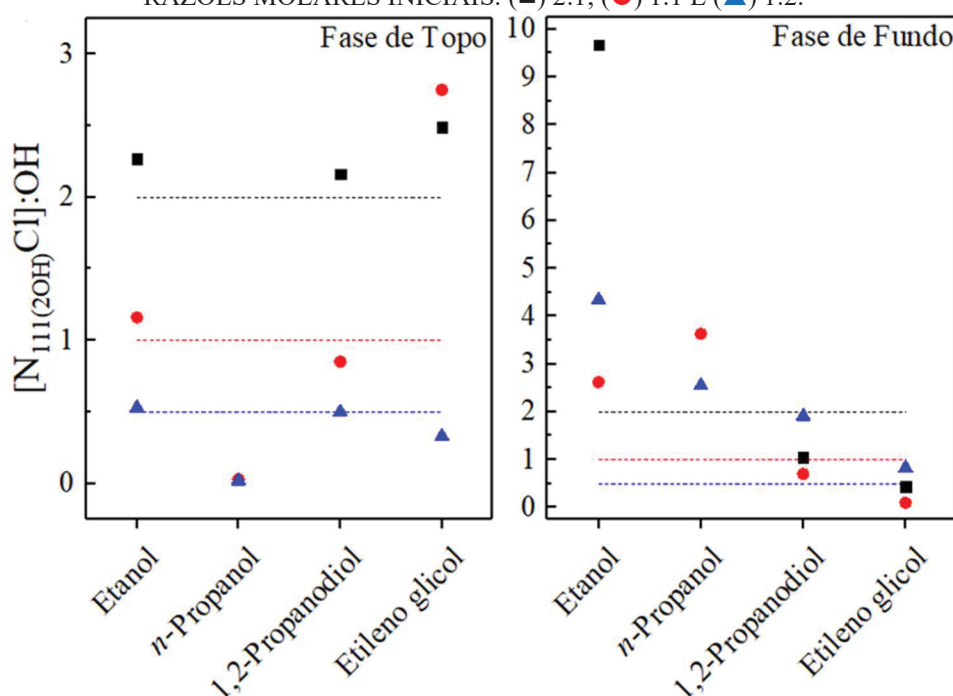
FIGURA 29 - REPRESENTAÇÃO TRIDIMENSIONAL DOS SISTEMAS QUATERNÁRIOS $[N_{111(2OH)}]Cl + \text{ÁLCOOL} + K_2HPO_4 + H_2O$ A DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{111(2OH)}]Cl$: OH: (●) 2:1, (●) 1:1 E (●) 1:2 E PARA OS SISTEMAS TERNÁRIOS (●) $[N_{111(2OH)}]Cl + K_2HPO_4 + H_2O$, (●) $\text{ÁLCOOL} + K_2HPO_4 + H_2O$ E (●) $n\text{-PROPANOL} + [N_{111(2OH)}]Cl + H_2O$



Fonte: A Autora (2018)

A razão molar entre o $[N_{111(2OH)}]Cl$ (RH) e o álcool (DH) nas fases dos sistemas também foi calculada de modo a verificar a estequiometria final destes compostos do SDFA e os resultados estão na FIGURA 30. As diferentes estequiometrias entre o RH ($[N_{111(2OH)}]Cl$) e os álcoois (DH) etanol e 1,2-propanodiol na fase de topo se mantêm muito próximas da estequiometria da mistura inicial utilizada na obtenção dos SDFA. De maneira similar aos resultados apresentados no Capítulo 5 esses dois álcoois são particionados principalmente para a fase de topo, a qual é rica em $[N_{111(2OH)}]Cl$ e assim a razão molar da mistura inicial se mantém nessa fase. Isto ocorre possivelmente pela alta hidrofilicidade da fase rica em K_2HPO_4 fazendo com que os álcoois se particionem preferencialmente para a fase oposta. Na fase de fundo, por sua vez, devido as baixas concentrações destes compostos nessa fase não é possível observar comportamento semelhante. O etileno glicol, molécula de maior caráter hidrofílico avaliada, apresentou maior partição para a fase de fundo e consequentemente a estequiometria inicial não se manteve nas razões 2:1 e 1:1, porém se manteve na razão 1:2 em ambas as fases. Já para o sistema contendo *n*-propanol a estequiometria RH:DH não se manteve em nenhuma das fases, o que já era esperado. Nestes sistemas a fase de topo é extremamente rica em *n*-propanol enquanto que o $[N_{111(2OH)}]Cl$ permanece na fase de fundo com o sal (K_2HPO_4) de forma que a estequiometria não é mantida.

FIGURA 30 - RAZÃO MOLAR ENTRE O $[N_{111(2OH)}]Cl$ (RH) E OS ÁLCOOIS (DH) NA MISTURA INICIAL (LINHA TRACEJADA) E NAS FASES DOS SISTEMAS ESTUDADOS EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES INICIAIS: (■) 2:1; (●) 1:1 E (▲) 1:2.



Fonte: A Autora (2018)

6.2. Modelagem Termodinâmica

O modelo NRTL foi utilizado para correlacionar os dados experimentais dos SDFA quaternários $[N_{111(2OH)}]Cl + OH + K_2HPO_4 + H_2O$ a 25 °C. Os parâmetros de interação binária deste modelo estão na TABELA 14.

De maneira geral o modelo foi satisfatório para a representação dos dados sendo os desvios quadráticos médio (RMSD) inferiores a 1,13 %.

TABELA 14 – PARÂMETROS DO MODELO NRTL PARA OS SISTEMAS QUATERNÁRIO
 $K_2HPO_4 + [N_{111(2OH)}]Cl + OH + H_2O$ A 25°C

Paramêtros (i/j)	A _{0,ij} /K	A _{0,ji} /K	α _{ii}	RMSD ^a (%)
[N _{111(2OH)}]Cl + etanol + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O				
etanol / K ₂ HPO ₄	1205,4	1884,4	0,20000	0,87
etanol / [N _{111(2OH)}]Cl	-75,224	-15,987	0,30081	
etanol / H ₂ O	-113,84	1206,3	0,29941	
K ₂ HPO ₄ / [N _{111(2OH)}]Cl	487,94	854,83	0,20843	
K ₂ HPO ₄ / H ₂ O	-28,688	1113,3	0,45402	
[N _{111(2OH)}]Cl / H ₂ O	1956,5	3350,7	0,36196	
[N _{111(2OH)}]Cl + <i>n</i> -propanol + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O				
<i>n</i> -propanol / K ₂ HPO ₄	1115,5	344,76	0,46422	0,63
<i>n</i> -propanol / [N _{111(2OH)}]Cl	1337,7	-11,701	0,20000	
<i>n</i> -propanol / H ₂ O	950,79	1571,0	0,36984	
K ₂ HPO ₄ / [N _{111(2OH)}]Cl	2959,9	325,90	0,20000	
K ₂ HPO ₄ / H ₂ O	133,72	2954,7	0,41414	
[N _{111(2OH)}]Cl / H ₂ O	920,97	1155,7	0,44224	
[N _{111(2OH)}]Cl + 1,2-propanodiol + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O				
1,2-propanodiol / K ₂ HPO ₄	698,04	614,60	0,21102	1,13
1,2-propanodiol / [N _{111(2OH)}]Cl	3247,7	-110,18	0,20000	
1,2-propanodiol / H ₂ O	8974,6	2119,9	0,40378	
K ₂ HPO ₄ /[N _{111(2OH)}]Cl	1807,1	2132,8	0,20381	
K ₂ HPO ₄ / H ₂ O	-193,93	631,22	0,47000	
[N _{111(2OH)}]Cl / H ₂ O	-412,47	1284,7	0,44715	
[N _{111(2OH)}]Cl + etileno glicol + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O				
Etileno glicol / K ₂ HPO ₄	422,18	6387,7	0,45279	1,10
Etileno glicol / [N _{111(2OH)}]Cl	2364,2	408,25	0,31057	
Etileno glicol / H ₂ O	1182,7	1228,2	0,43317	
K ₂ HPO ₄ /[N _{111(2OH)}]Cl	483,26	541,88	0,39818	
K ₂ HPO ₄ / H ₂ O	1463,0	4552,9	0,28290	
[N _{111(2OH)}]Cl / H ₂ O	-178,09	1863,1	0,42718	

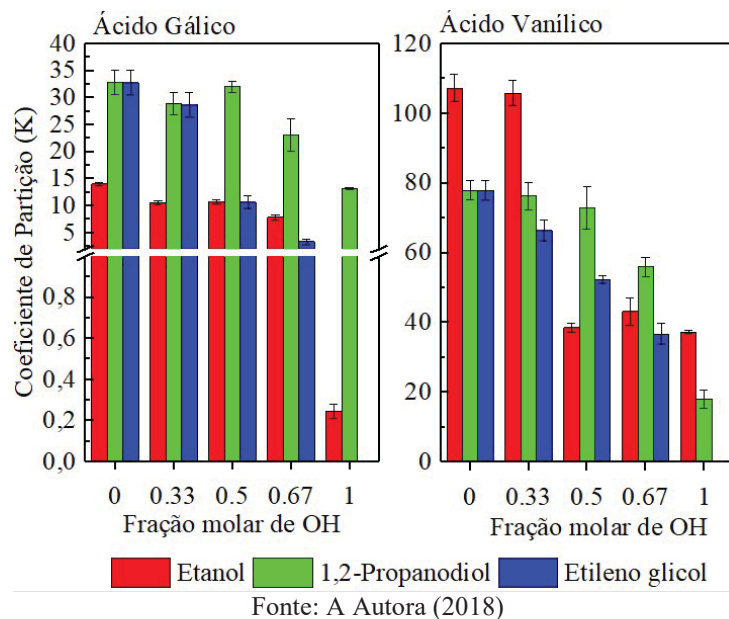
Fonte: A Autora (2018)

6.3. Partição de biomoléculas

De modo a confirmar a habilidade de *designer solvent* dos diferentes álcoois nas propriedades das fases dos sistemas em equilíbrio a partição de oito diferentes biomoléculas em todos os pontos de composição global da TABELA 13 foi avaliada. As biomoléculas estudadas foram: dois compostos fenólicos (ácido gálico e ácido vanílico), quatro aminoácidos (L-tirosina, L-triptofano, L-fenilalanina e glicina) e dois alcaloides (cafeína e nicotina). O coeficiente de partição (K) em função da concentração dos álcoois: etanol, 1,2-propileno glicol e etileno glicol está representado nas FIGURA 31 a 33. Com os dados apresentados é possível observar que todas as biomoléculas avaliadas, com exceção da glicina, se particionam preferencialmente para fase de topo ($K > 1$), a qual é composta principalmente por $[N_{111}(2OH)]Cl$ e álcool. Além disso, a natureza e a concentração do álcool adicionado parecem afetar de maneira significativa a partição das biomoléculas em função das suas características físico-químicas. Devido ao comportamento distinto dos sistemas contendo propanol o estudo de partição nestes será discutido separadamente.

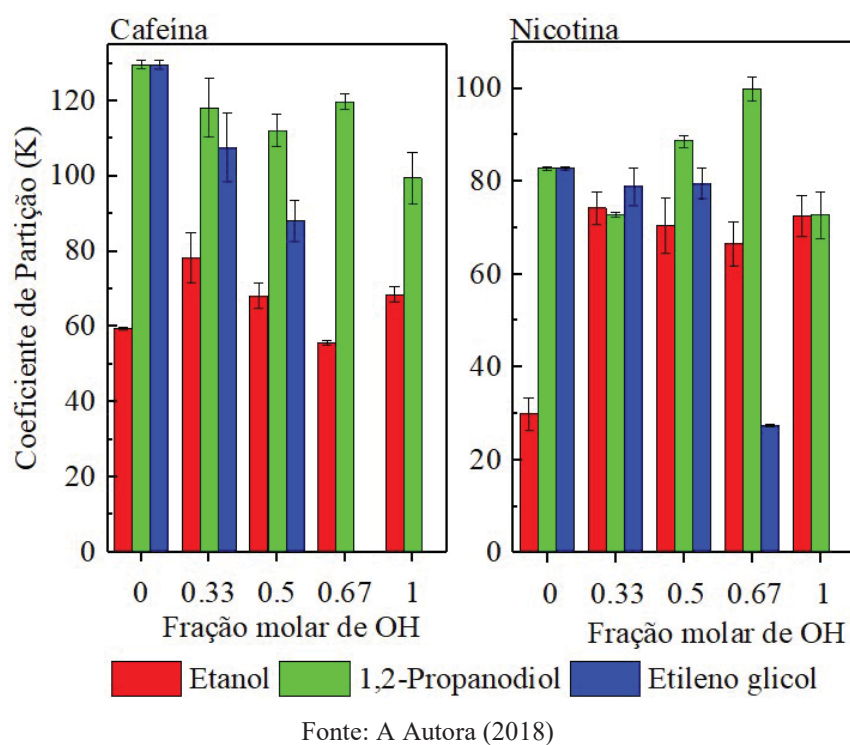
De maneira geral, a presença dos álcoois (etanol, 1,2-propanodiol e etileno glicol) em relação ao sistema ternário $[N_{111}(2OH)]Cl + K_2HPO_4 + H_2O$ resulta na redução do coeficiente de partição dos compostos fenólicos (ácido gálico e ácido vanílico) conforme apresentado na FIGURA 31. As fases dos SDFA aqui avaliados se encontram na faixa de pH de 9 a 10,6, sendo que nessa faixa de pH os compostos fenólicos aqui avaliados são carregados negativamente e possuem maior caráter hidrofílico. Desta forma, a redução do caráter hidrofílico da fase de topo na presença dos álcoois acaba por não favorecer a partição dos compostos fenólicos nestes sistemas. Diferenças na partição das biomoléculas nos sistemas com etanol (mono álcool) em relação aos di álcoois (1,2-propanodiol e etileno glicol) também foram observadas. Entretanto deve-se ressaltar que essas partições foram realizadas em diferentes pontos de mistura, considerando as grandes diferenças na região bifásica destes sistemas. Para o sistema ternário (apenas com $[N_{111}(2OH)]Cl$) ambas as composições globais foram avaliadas e apresentaram diferenças nos valores de coeficiente de partição resultantes dos diferentes pontos de mistura iniciais. Dentre os di álcoois, o 1,2-propanodiol se apresentou mais favorável na partição dos compostos fenólicos para a fase rica em $[N_{111}(2OH)]Cl$ em relação ao etileno glicol.

FIGURA 31 – COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) COMPOSTOS FENÓLICOS NA FASE DE TOPO DOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{111(20H)}]Cl + \text{ÁLCOOL (OH)} + K_2HPO_4 + H_2O$ EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{111(20H)}]Cl:OH$



O coeficiente de partição dos alcaloides porém, FIGURA 32, sofreu menor efeito do que os compostos fenólicos na presença dos álcoois.

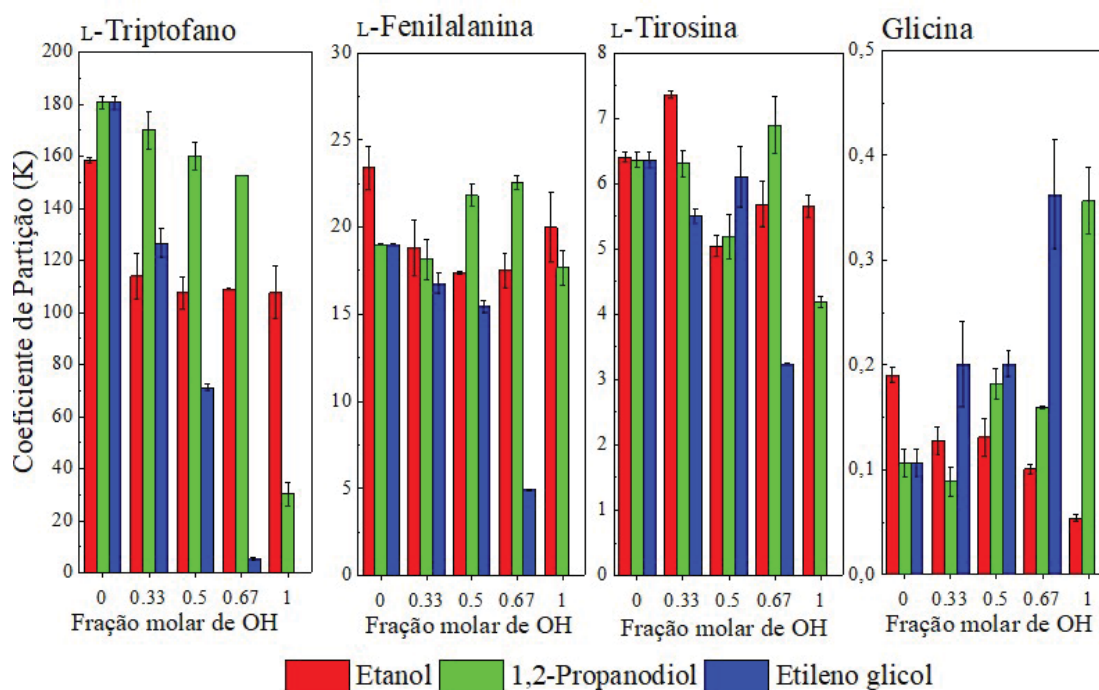
FIGURA 32 - COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) DOS ALCALÓIDES NA FASE DE TOPO DOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{111(20H)}]Cl + \text{ÁLCOOL (OH)} + K_2HPO_4 + H_2O$ EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{111(20H)}]Cl:OH$



De maneira geral, a partição da cafeína para fase de topo é levemente melhorada na presença de etanol, enquanto que a presença dos di álcoois reduz a partição deste composto para esta fase. Por outro lado, a presença do etanol melhorou significativamente a partição da nicotina para todas as concentrações de álcool avaliadas, enquanto que os di álcoois só apresentaram maior efeito na fração 0,67. Estes resultados indicam que devido ao maior caráter hidrofóbico do etanol, em relação aos di álcoois, este se torna mais favorável a partição dos alcaloides nos sistemas aqui avaliados, o que está de acordo com o log (K_{ow}) destes compostos. No sistema quaternário contendo a fração molar 0,67 de etileno glicol não foram apresentados resultados para a partição de cafeína devido a sua precipitação no sistema. Este fato pode ser utilizado como um ponto de partida na busca de técnicas para recuperação da cafeína extraída.

No que diz respeito a partição dos aminoácidos pode-se observar uma relação direta entre os resultados obtidos para o coeficiente de partição, K (L-triptofano) > K (L-fenilalanina), K (L-tirosina) > K glicina, e o coeficiente de partição octanol-água (log (K_{ow})) destas moléculas (TABELA 5). Essa relação pode ser observada na FIGURA 34.

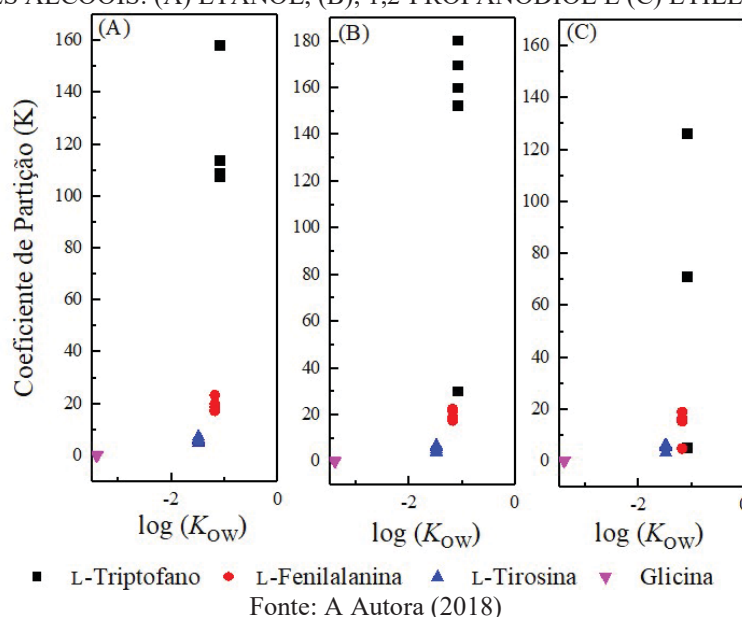
FIGURA 33 - COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) DOS AMINOÁCIDOS NA FASE DE TOPO DOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{111}(20H)]Cl + \text{ÁLCOOL (OH)} + K_2HPO_4 + H_2O$ EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{111}(20H)]Cl:OH$



Fonte: A Autora (2018)

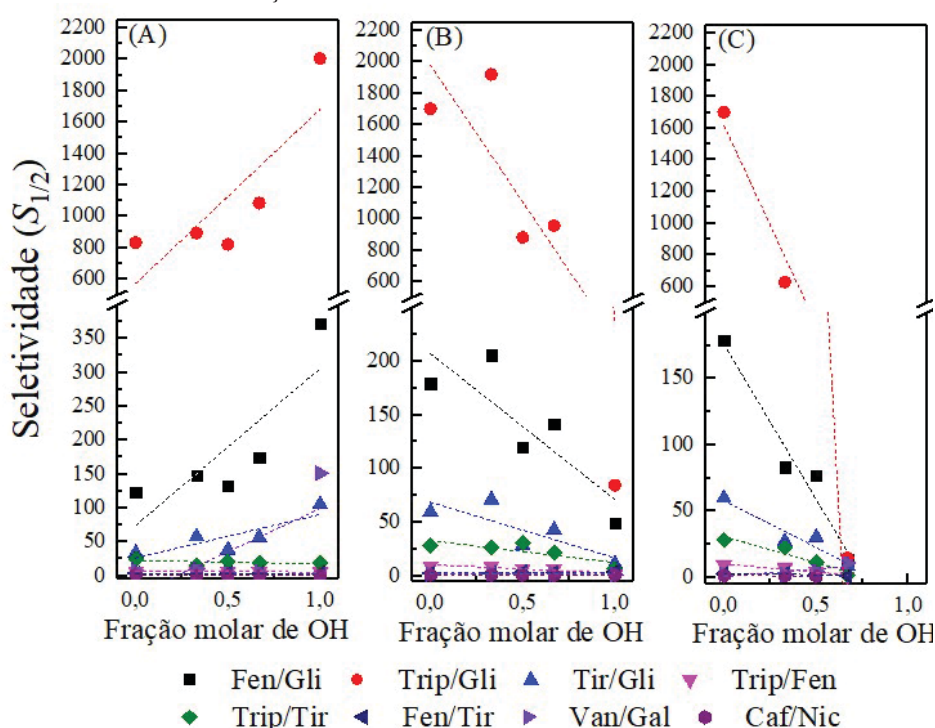
Na FIGURA 34 torna-se claro o aumento do coeficiente de partição com o aumento do caráter hidrofóbico dos amino ácidos (maiores valores de $\log(K_{OW})$). O amino ácido L-triptofano apresentou o maior coeficiente de partição dentre todas as biomoléculas estudadas. Um comportamento similar foi descrito na seção anterior onde o L-triptofano aparentou realizar interações específicas com o $[N_{111}(2OH)]Cl$ no SDFA composto por $[N_{111}(2OH)]Cl$, glucose, poli(propileno)glicol e água, de modo que o $[N_{111}(2OH)]Cl$ parece ser o principal responsável pela partição deste composto para fase de topo desses sistemas. De maneira contrária aos demais, a glicina, único aminoácido alifático dentre os estudados, apresentou em todos os sistemas $K \ll 1$. O comportamento da glicina era esperado considerando o alto caráter hidrofílico desta molécula ($\log(K_{OW}) = -3,41$) de modo que este aminoácido se particiona principalmente para a fase rica em sal (fase de fundo). O índice de extração da glicina para a fase de fundo ficou na faixa de 75,0 a 98,9 %. A influência da natureza do álcool bem como da sua concentração na partição dos aminoácidos se demonstrou dependente do caráter hidrofóbico/hidrofílico destas biomoléculas. Desta forma, a partição dos aminoácidos aromáticos (L-triptofano, L-fenilalanina e L-tirosina) foi pouco influenciada pela presença do etanol, enquanto que na presença do 1,2-propanodiol e etileno glicol houve uma redução significativa no coeficiente de partição destas moléculas. Entretanto, devido ao caráter hidrofílico do etileno glicol, este acaba por favorecer a partição da glicina para a fase de topo, reduzindo a eficiência da separação deste composto para a fase rica em sal.

FIGURA 34 – COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) NA FUNÇÃO DO $\log(K_{OW})$ DOS AMINOACIDOS AVALIADOS NOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{111}(2OH)]Cl$, K_2HPO_4 , H_2O E DIFERENTES ÁLCOOIS: (A) ETANOL, (B), 1,2-PROPANODIOL E (C) ETILENO GLICOL.



As seletividades (S) dos SDFA estudados também foram avaliadas para moléculas da mesma família (compostos fenólicos, alcaloides e amino ácidos). Estes resultados podem ser observados na FIGURA 35. Como esperado, para moléculas de diferentes famílias, um comportamento diferente de seletividade foi observado. Quanto maior o valor de S maior a capacidade dos sistemas em separar seletivamente os compostos avaliados.

FIGURA 35 – SELETIVIDADE (S) SDFA COMPOSTOS POR $[N_{111}(2OH)]Cl$, K_2HPO_4 , H_2O E DIFERENTES ÁLCOOIS: (A) ETANOL, (B), 1,2-PROPANODIOL E (C) ETILENO GLICOL NA EXTRAÇÃO DE DIFERENTES BIOMOLÉCULAS



Fonte: A Autora (2018)

Avaliando a seletividade dos alcaloides, os valores de $S_{Caf/Nic}$ foram sempre próximos de 1, o que indica a baixa habilidade destes SDFA em separar seletivamente os alcaloides em estudo. Por outro lado, para os compostos fenólicos os valores de $S_{Van/Gal}$ foram sempre superiores a 2 e o melhor resultado observado foi para o sistema etanol + K_2HPO_4 + H_2O , onde $S_{Van/Gal} = 151,1$. Na separação dos aminoácidos aromáticos a $S_{Trip/Tir}$ apresentou os melhores resultados, o que se relaciona ao fato do triptofano ($\log(K_{ow}) = -1,06$) e da tirosina ($\log(K_{ow}) = -2,26$) serem de maior e menor caráter hidrofóbico dentre os aminoácidos aromáticos estudados, respectivamente. Além disso, o maior valor obtido para $S_{Trip/Tir}$ foi de 30,9 para um sistema onde uma mistura $[N_{111}(2OH)]Cl$ + 1,2-propanodiol foi utilizada demonstrando o potencial dos álcoois como

designer solvent para atingir melhores índices de separação. Como esperado, para a seletividade entre os aminoácidos aromáticos e a glicina (alifático) foram encontrados os melhores valores, na faixa de 8,9 a 2006. A alta seletividade em separar os aminoácidos aromáticos da glicina é resultante da maior preferência deste composto pela fase rica em K_2HPO_4 .

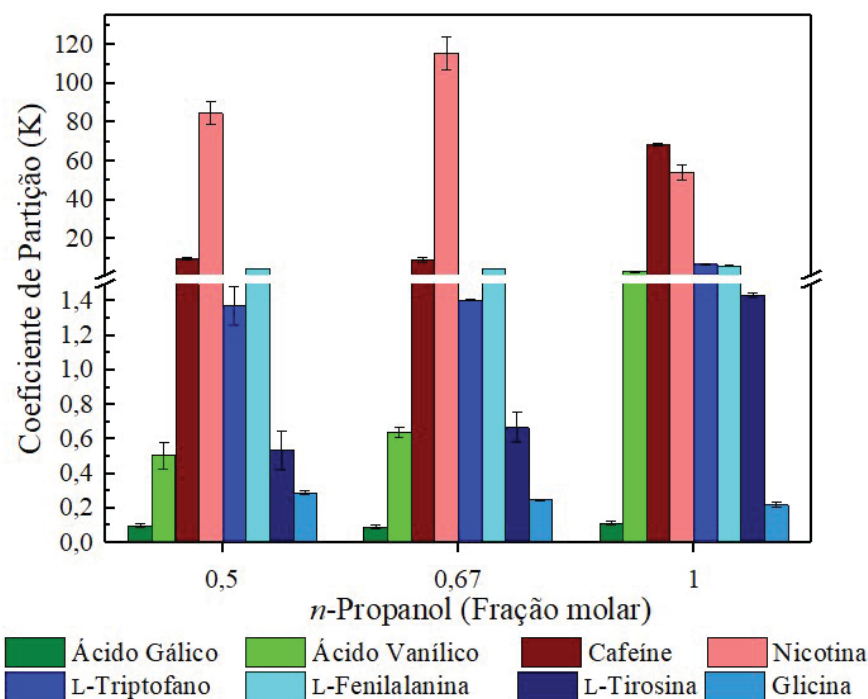
Apesar da natureza da biomolécula ser um fator determinante na seletividade dos sistemas, a concentração e natureza dos álcoois utilizados também apresentam grande influência neste parâmetro. Na FIGURA 35, é possível observar que enquanto a presença do etanol tende a aumentar a seletividade dos pares avaliados, a adição dos di álcoois, 1,2-propanodiol e etileno glicol, no sistema ternário $[N_{111}(2OH)]Cl + K_2HPO_4 + H_2O$, acaba por reduzir a seletividade deste SDFA. Com esses resultados reforça-se a versatilidade dos sistemas estudados, uma vez que, alterando a natureza ou a concentração do álcool adicionado como quarto componente torna-se possível modular a partição de moléculas distintas (como a glicina e os aminoácidos aromáticos) ou até mesmo biomoléculas muito similares (como o ácido vanílico e ácido gálico).

Como mencionado anteriormente os sistemas quaternários em que se utilizaram *n*-propanol apresentaram comportamento distinto dos demais sistemas, considerando que a fase de topo apresenta altas concentrações de *n*-propanol. Este comportamento gera um grande impacto na partição das biomoléculas avaliadas como pode ser observado na FIGURA 36. Com exceção da nicotina, todas as biomoléculas apresentadas na FIGURA 36 apresentaram valores muito baixos de *K* se comparados com os demais álcoois avaliados. Isso é resultado da alta concentração de *n*-propanol (em torno de 80%) a qual confere um caráter altamente hidrofóbico a esta fase do sistema.

A maior hidrofobicidade relativa desta fase do SDFA acaba por não favorecer a extração de grande parte das biomoléculas estudadas as quais são hidrofílicas ou de hidrofobicidade moderada. Entretanto, o aumento da concentração de *n*-propanol no sistema quaternário favorece a partição destas biomoléculas. Estes resultados sugerem que a partição dessas biomoléculas é guiada por diferentes tipos de interações. No caso do L-triptofano, por exemplo, a sua partição nos sistemas com *n*-propanol foi significativamente inferior a partição destes compostos na presença dos álcoois etanol, 1,2-propanodiol e etileno glicol. Isso se deve à preferencial partição deste aminoácido para a fase de fundo a qual apresenta maior concentração de $[N_{111}(2OH)]Cl$. Para a nicotina, por exemplo, embora ocorra um aumento do coeficiente de partição na maior concentração de *n*-propanol, na ausência do $[N_{111}(2OH)]Cl$ o *K* é menor, o que sugere que

a nicotina possui interações específicas com o $[N_{111}(2OH)]Cl$ de modo a influenciar a partição deste composto neste tipo de SDFA.

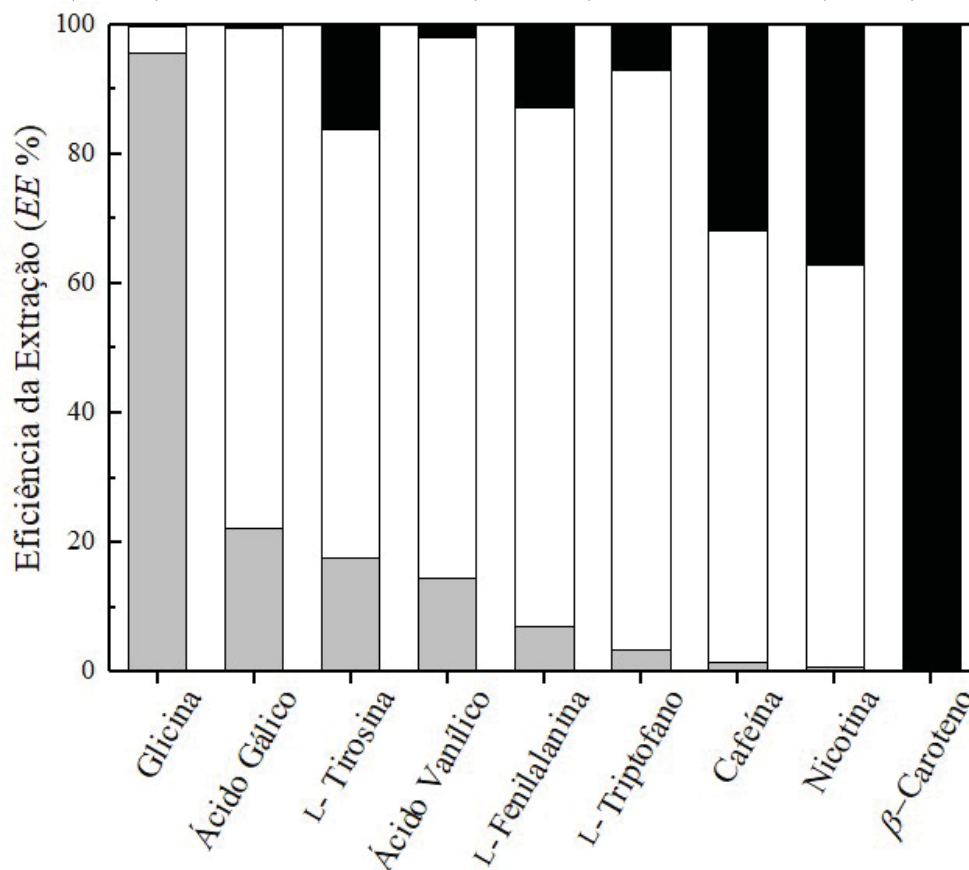
FIGURA 36 – COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) DA FASE DE TOPO DOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{111}(2OH)]Cl$ + *n*-PROPANOL + K_2HPO_4 + H_2O A DIFERENTES FRAÇÕES MOLARES DE $[N_{111}(2OH)]Cl$: *n*-PROPANOL



Fonte: A Autora (2018)

Dentre as particularidades dos sistemas contendo *n*-propanol a sua capacidade de formar três fases torna-se de interesse nos ensaios de partição de modo que surge a possibilidade de separar mais de duas biomoléculas em uma única etapa. Desta forma, determinou-se a eficiência do sistema multifásico em particionar todas as biomoléculas avaliadas até o momento e o composto β -caroteno. O β -caroteno foi escolhido nesta etapa do trabalho devido a seu grande caráter hidrofóbico ($\log K_{ow} = 11,12$). A composição global do sistema multifásico avaliado foi: 20 % (m/m) de $[N_{111}(2OH)]Cl$: *n*-propanol (1:1, razão molar), 30 % (m/m) de K_2HPO_4 e 50 % (m/m) de H_2O . Os resultados obtidos para estes ensaios estão apresentados na FIGURA 37.

FIGURA 37 – EFICIÊNCIA NA EXTRAÇÃO DE BIOMOLECULAS (EE %) NAS TRÊS FASES DO SISTEMA CONSTITUÍDO POR $[N_{111(2OH)}]Cl$: *n*-PROPANOL(1:1), K_2HPO_4 E H_2O : FASE DE FUNDO (CINZA), FASE INTERMEDIÁRIA (BRANCO) E FASE DE TOPO (PRETO)



Fonte: A Autora (2018)

Como discutido anteriormente o sistema multifásico obtido é composto por três fases, sendo que a fase de topo é rica em *n*-propanol, a fase intermediária rica em $[N_{111(2OH)}]Cl$ e a fase de fundo rica em K_2HPO_4 . De maneira similar ao observado nos sistemas bifásicos, com exceção da glicina e do β -caroteno, todas as biomoléculas se particionam principalmente para a fase rica em $[N_{111(2OH)}]Cl$. A glicina apresentou 95,6 % de extração para a fase de fundo enquanto que o β -caroteno foi totalmente particionado para a fase de topo. Estes resultados mais uma vez reforçam a importância do caráter hidrofílico e hidrofóbico das fases dos SDFA na separação das moléculas alvo. Desta forma com o sistema proposto é possível separar três diferentes biomoléculas em uma única etapa, como glicina, triptofano e β -caroteno, por exemplo.

Os resultados reportados sugerem que a presença do álcool nas misturas quaternárias compostas por $[N_{111(2OH)}]Cl$ + álcool + K_2HPO_4 + H_2O altera as características das fases dos SDFA. A possibilidade de se utilizar álcoois de diferente natureza e alterar a concentração deste componente no sistema nos permite delinear as

propriedades das fases e consequentemente modular o comportamento da partição de acordo com a molécula de interesse. Todos os valores de coeficiente de partição e eficiência de extração deste trabalho se encontram no APÊNDICE E.

6.4. Considerações Finais

Nesta seção diferentes álcoois foram avaliados para a obtenção de SDFA com $[N_{111}(2OH)]Cl$, K_2HPO_4 e H_2O . Diferentes razões molares $[N_{111}(2OH)]Cl:OH$ foram avaliadas e verificou-se que a presença dos álcoois de maior caráter hidrofóbicos (etanol e *n*-propanol) induz ao aumento da região bifásica em relação ao sistema ternário $[N_{111}(2OH)]Cl + K_2HPO_4 + H_2O$, enquanto os álcoois mais hidrofílicos apresentaram efeito contrário. Desta forma, alterando a natureza e a concentração do álcool utilizado é possível manipular as propriedades das fases dos sistemas. Os sistemas contendo *n*-propanol apresentaram um comportamento mais complexo que os demais sistemas apresentando inclusive a capacidade de formar sistemas multifásicos (trifásicos). Com os ensaios de partição de biomolécula demonstrou-se a capacidade dos sistemas estudados em serem utilizados como uma alternativa para separação de biomoléculas em uma única etapa. Além disso, destaca-se a versatilidade dos SDFA compostos por $[N_{111}(2OH)]Cl:OH$ onde se torna possível manipular as características das fases e modular a partição de diferentes biomoléculas alterando a natureza e concentração do álcool utilizado.

CAPÍTULO 7 – Influência do pH em SDFA DES-SAL⁴

No Capítulo 7 diferentes misturas compostas por $[N_{4444}]Cl$ e os álcoois: etanol e n-propanol foram avaliados quanto a sua capacidade em formar SDFA com sal citrato de potássio tribásico. Avaliou-se também como mudanças no pH nestes sistemas podem afetar o ELL e a partição de biomoléculas.

7.1. Obtenção de dados de equilíbrio líquido-líquido

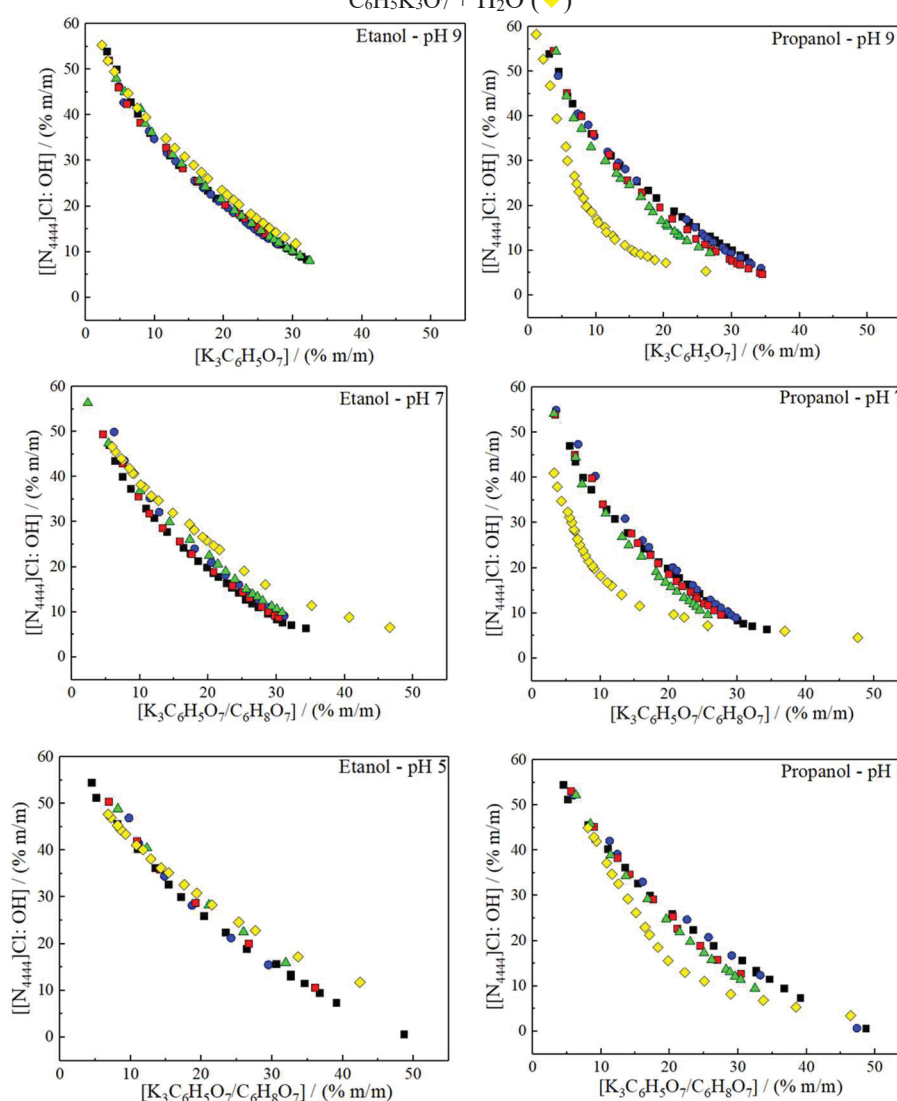
O mecanismo de formação do sistema ternário constituído pelo sal quaternário de amônio $[N_{111}(2OH)]Cl$ e o sal K_2HPO_4 já é bem estabelecido e comandado pela competição destes sais por complexos de hidratação. Os sais inorgânicos, como os sais de fosfato e sulfato, por exemplo, são muito utilizados para a obtenção de SDFA devido ao alto efeito cosmotrópico de seus íons. Por outro lado, o uso de sais orgânicos, como o citrato, é desejável pois estes sais além de possuírem alta afinidade com a água podendo causar *salting-out* sobre diferentes espécies, são biodegradáveis, não tóxicos e podem ser descartados em estações biológicas de tratamento de águas residuais. Além disso, o citrato de potássio ($C_6H_5K_3O_7$) é capaz de formar soluções tampão a diferentes valores de pH com o ácido cítrico ($C_6H_8O_7$), soluções estas também com características biodegradáveis (FERREIRA; CLÁUDIO; VÁLEGA; et al., 2017; PASSOS; FERREIRA; CLÁUDIO; et al., 2012; ZAFARANI-MOATTAR; HAMIDI, 2003; ZAFARANI-MOATTAR; HAMZEHZADEH, 2009). A solução aquosa de $C_6H_5K_3O$ confere o pH 9 ao sistema enquanto que o tampão Citrato $C_6H_5K_3O/C_6H_8O_7$ fixa o pH do sistema nos valores desejados. Neste trabalho foram utilizados os valores de pH 5, 7 e 9.

Nos sistemas DES-sal avaliados nos Capítulos 4 e 6 ambas as fases do sistemas eram ricas em água, enquanto que no sistema DES-PPG (Capítulo 5) a fase de polímero era relativamente hidrofóbica e a fase rica em $[N_{111}(2OH)]Cl$ relativamente mais hidrofílica. Nesta etapa do trabalho, espera-se obter um sistema onde a fase rica nos componentes do DES possua maior caráter hidrofóbico formando SDFA com uma solução salina de caráter mais hidrofílica, no qual sejam possíveis de se avaliar a influência de diferentes

⁴Os resultados apresentados neste capítulo foram baseados no manuscrito publicado: FARIAS, F. O.; PASSOS, H.; COUTINHO, J. A. P.; MAFRA, M. R. pH Effect on the Formation of Deep-Eutectic-Solvent-Based Aqueous Two-Phase Systems. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 57, 2018.

valores de pH sobre o ELL. O cloreto de tetrabutilamônio ($[N_{4444}]Cl$) foi escolhido por ser um sal quaternário de amônio de maior hidrofobicidade ($\log K_{OW} = 1,32$) em relação ao $[N_{111}(2OH)]Cl$ ($\log K_{OW} = -4,66$), característica conferida pelo maior tamanho de sua cadeia. As curvas binodais dos sistemas quaternários e dos sistemas ternários ($[N_{4444}]Cl$ / álcool + $C_6H_5K_3O_7$ + H_2O) nos valores de pH 5, 7 e 9 são apresentadas na FIGURA 38. Os dados experimentais das curvas experimentais estão no APÊNDICE A.

FIGURA 38 - DIAGRAMA DE FASES A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA DOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{4444}]Cl$: OH + $C_6H_5K_3O_7$ + H_2O A DIFERENTES VALORES DE pH: 5, 7 e 9 E DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $N_{4444}Cl$: ETANOL/ n-PROPANOL: 2:1 (●), 1:1 (■), 1:2 (▲) E PARA OS SISTEMAS TERNÁRIOS $[N_{4444}]Cl$ + $C_6H_5K_3O_7$ + H_2O (■) E ETANOL/ PROPANOL + $C_6H_5K_3O_7$ + H_2O (◆)



Fonte: A Autora (2018)

No mecanismo de formação de fases dos sistemas ternários compostos por $[N_{4444}]Cl$, $C_6H_5K_3O_7$ e H_2O ocorre uma competição entre os dois sais por complexos de hidratação (PASSOS; FERREIRA; CLÁUDIO; et al., 2012; ZAFARANI-MOATTAR;

HAMZEHZADEH, 2011a). Devido a maior densidade de carga do sal de citrato, este possui maior habilidade de interagir com a água, induzindo o *salting-out* do $[N_{4444}]Cl$ para a fase oposta. Quando um doador de hidrogênio é adicionado ao sistema, neste caso etanol ou *n*-propanol, podem ser observadas algumas mudanças em função da natureza e concentração do álcool (FIGURA 38). A presença do etanol resulta em uma leve redução da região bifásica enquanto que a presença do *n*-propanol possui efeito contrário, aumentando a região bifásica.

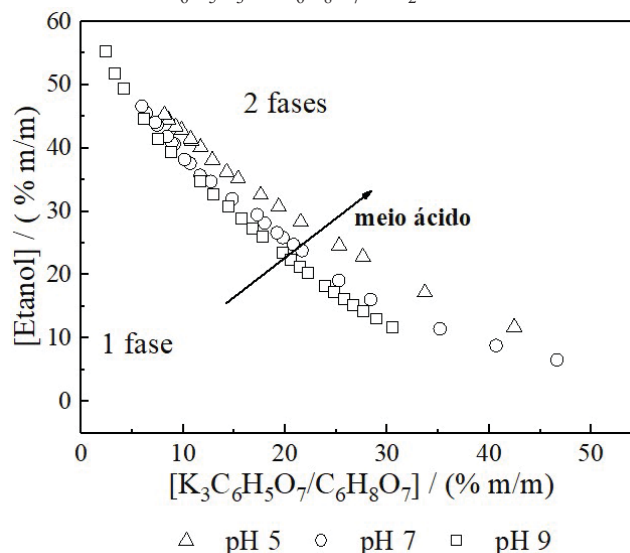
Embora ambos os álcoois usados neste trabalho sejam completamente imiscíveis em água (FARIAS; PASSOS; SANGLARD; et al., 2018; GREVE; KULA, 1991; WANG; HAN; XU; et al., 2010), a adição de sal a uma solução alcoólica induz a migração das moléculas de água para longe das moléculas de etanol ou *n*-propanol. O que é confirmado, visto que ambos os álcoois são capazes de formar SDFA quando misturados com soluções aquosas de $C_6H_5K_3O_7$, mesmo na ausência de $[N_{4444}]Cl$. Wang e colaboradores (2009), utilizaram a teoria de exclusão de volume (EVV, do inglês *excluded volume theory*) para explicar a capacidade dos álcoois em formar SDFA. Esses autores propuseram que a temperatura de ebulição dos álcoois pode ser utilizada para explicar a intensidade das forças atuantes entre as moléculas dos álcoois (vdW e ligações de hidrogênio). Desta forma, as moléculas com maior ponto de ebulição apresentam forças de maior intensidade atuando entre suas moléculas e com isso as moléculas são mais facilmente excluídas da fase rica em sal de um SDFA (WANG; YAN; HU; et al., 2009). Nesse trabalho, o sistema ternário composto por *n*-propanol, $C_6H_5K_3O_7$ e H_2O apresentou a maior região bifásica dentre todos os sistemas estudados ($T_{\text{ebulição propanol}} = 97\text{ }^{\circ}C$ e $T_{\text{ebulição etanol}} = 78\text{ }^{\circ}C$).

No que diz respeito ao efeito do pH sobre as curvas binodais, deve-se considerar que ambos os componentes formadores da mistura, $[N_{4444}]Cl$ e os álcoois (etanol e propanol), não sofrem especiação química com a variação de pH, sendo as pequenas variações observadas, nos sistemas de mesma composição, resultantes da especiação química do sal citrato de potássio com o pH.

Em pH 9 e 7, o sal $C_6H_5K_3O_7$ em solução está presente predominantemente na forma de íons K^+ e $C_6H_5O_7^{3-}$. A acidificação do sistema até pH 5 resulta em uma redução da carga negativa do ânion para $C_6H_5O_7^{2-}$ e $C_6H_5O_7^-$ e consequentemente reduz a habilidade deste sal em formar SDFA. O menor pH avaliado foi 5, pois em meios mais ácidos as espécies presentes são o ácido cítrico em sua forma não carregada e o ânion monovalente citrato dihidrogenado a quais não são capazes de formar SDFA. Quando o

pH do sistema é superior a 5 predomina a presença dos ânions di e trivalentes de citrato, os quais são capazes de induzir a formação de fase (FERREIRA; CLÁUDIO; VÁLEGA; et al., 2017). O aumento da região bifásica com o aumento do pH do sistema também pode ser relacionado através de uma abordagem termodinâmica, onde se espera que íons de maior carga negativa possuam uma maior habilidade em formar SDFA em função da sua energia livre de Gibbs de hidratação ($\Delta G_{\text{hidratação}}$). Para os ânions em questão: $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$ ($\Delta G_{\text{hidratação}} = -2793 \text{ kJ mol}^{-1}$) $>$ $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{2-}$ ($\Delta G_{\text{hidratação}} = -968 \text{ kJ mol}^{-1}$) $>$ $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^-$ ($\Delta G_{\text{hidratação}} = -81 \text{ kJ mol}^{-1}$). Íons de $\Delta G_{\text{hidratação}}$ mais negativos resultam em uma maior quantidade de água “estruturada” ao redor dos íons dos sais, consequentemente, o teor de água disponível para formar complexos de hidratação com o $[\text{N}_{444}]\text{Cl}$ diminui (ZAFARANI-MOATTAR; HAMZEZHADDEH, 2011a). Desta forma, em pH 9 ocorre a predominância de íons com valores de $\Delta G_{\text{hidratação}}$ mais negativos, o que torna os íons de citrato mais eficientes para promover a separação de fases, o que está de acordo com a série de Hofmeister, onde os ânions de maior densidade de carga e maior valência apresentam maior habilidade em induzir o *salting-out* e consequentemente formar SDFA (HOFMEISTER, 1888). Este comportamento foi observado para todas os sistemas avaliados, conforme exemplificado na FIGURA 39.

FIGURA 39 - DIAGRAMA DE FASES A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA DO SDFA COMPOSTOS POR ETANOL + $\text{C}_6\text{H}_5\text{K}_3\text{O}/\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 + \text{H}_2\text{O}$ A DIFERENTES VALORES DE pH.



Fonte: A Autora (2018)

Os resultados obtidos experimentalmente para as linhas de amarração dos sistemas ternários e quaternários, bem como o CLA, nos sistemas em pH 5, 7 e 9 estão na TABELA 15.

Em todos os SDFA avaliados, independentemente do pH as fases de topo são compostas principalmente por [N₄₄₄₄]Cl enquanto as fases de fundo são ricas em citrato. Como esperado, em função da baixa hidrofilicidade dos álcoois estes se particionaram preferencialmente para a fase rica em [N₄₄₄₄]Cl a qual apresenta maior hidrofobicidade entre as fases. A representação gráfica das linhas de amarração nas FIGURAS 40 a 42.

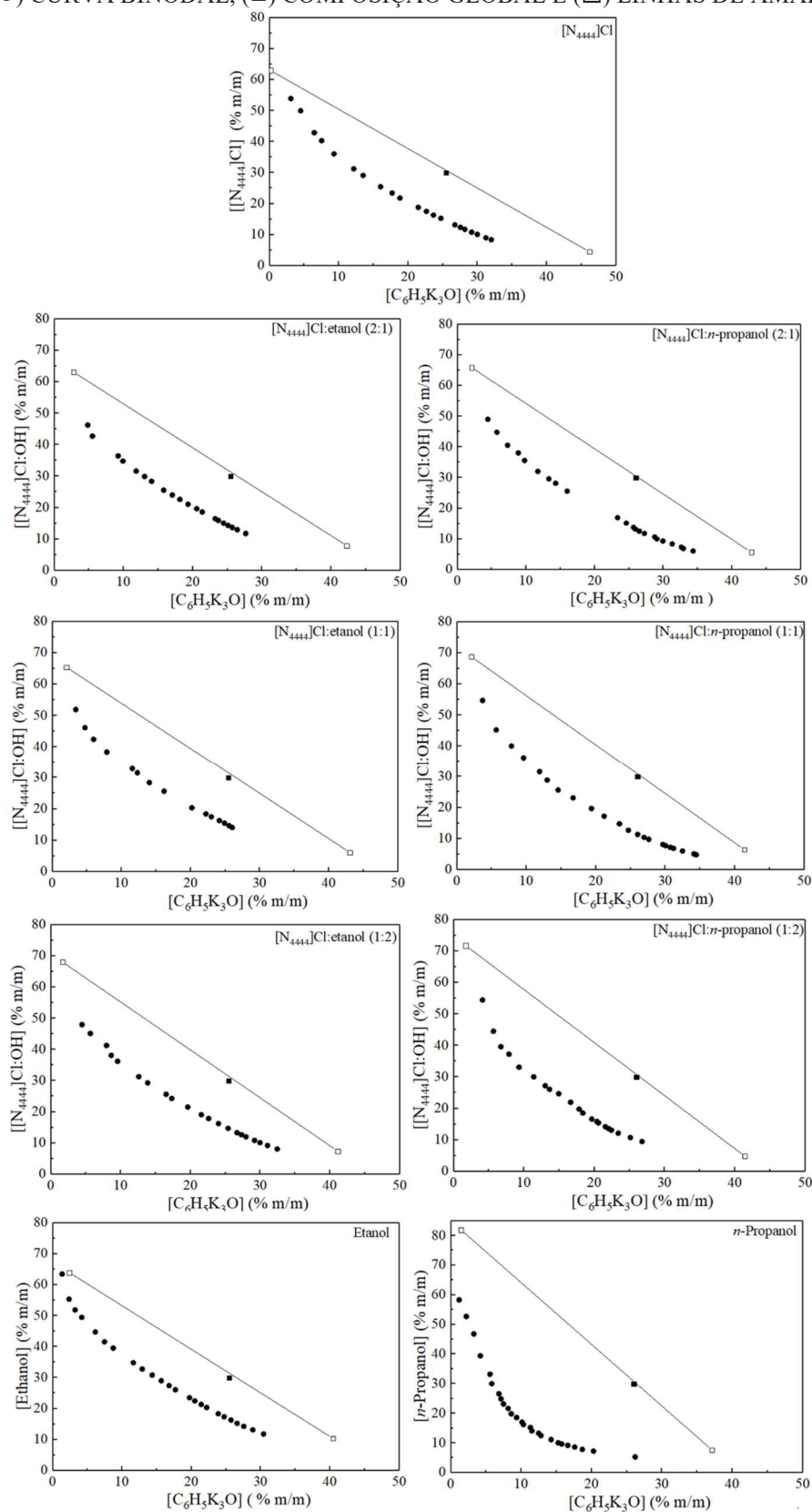
TABELA 15 – DADOS EXPERIMENTAIS DE ELL PARA OS SDFA A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA: (1) C₆H₅K₃O; (2) [N₄₄₄₄]Cl; (3) ÁLCOOL; (4) H₂O ^a

Razão molar de OH na mistura [N ₄₄₄₄]Cl:OH	Composição Global (% m/m)		Fase de topo (% m/m)				Fase de topo (% m/m)				CLA
	Sal	DES	[1]	[2]	[3]	[4]	[1]	[2]	[3]	[4]	
pH 9											
0 ^b	25	30	0,1	63,0	--	36,9	46,9	4,5	--	48,6	74,5
[N ₄₄₄₄]Cl: etanol											
0,33	25	30	2,8	58,1	4,8	34,3	42,2	7,3	0,6	49,9	64,5
0,50			2,0	55,5	9,9	32,6	43,0	5,5	0,7	50,8	65,4
0,67			1,7	51,4	16,6	30,3	41,1	5,4	2,0	51,5	62,4
1,00 ^c			2,4	--	63,9	33,7	40,4	--	10,4	49,2	65,6
[N ₄₄₄₄]Cl: <i>n</i> -propanol											
0,33	25	30	2,1	59,5	6,3	32,1	42,8	5,0	0,6	51,6	68,2
0,50			2,1	58,3	10,5	29,1	41,4	4,2	2,2	52,2	67,3
0,67			1,7	51,5	20,2	27,0	41,4	2,6	2,3	53,7	65,5
1,00 ^c			1,5	--	81,9	16,6	37,1	--	7,7	55,2	82,3
pH 7											
0 ^a	25	30	2,4	63,2	--	34,4	45,0	3,9	--	51,1	73,1
[N ₄₄₄₄]Cl: etanol											
0,33	25	30	2,7	57,7	4,1	35,5	41,0	4,1	2,1	52,8	65,9
0,50			2,3	56,7	7,3	33,7	40,6	3,9	3,5	52,0	65,3
0,67			2,0	50,1	13,4	34,5	38,5	3,9	3,4	54,2	59,7
1,00 ^b			2,0	--	63,1	34,9	44,3	--	9,8	45,9	68,1
[N ₄₄₄₄]Cl: <i>n</i> -propanol											
0,33	25	30	1,7	60,3	6,9	31,1	40,0	3,9	5,3	50,8	68,2
0,50			1,5	55,7	12,7	30,1	41,7	4,7	4,1	49,5	65,6
0,67			1,0	51,8	17,9	29,3	38,1	3,4	3,8	54,7	62,6
1,00 ^b			0,5	--	76,0	23,5	40,7	--	10,0	49,3	77,3
pH 5											
0 ^b	25	30	6,4	55,2	--	38,4	45,5	1,0	--	53,5	66,9
[N ₄₄₄₄]Cl: etanol											
0,33	25	30	7,8	52,6	3,8	35,8	43,2	1,1	0,6	55,1	62,6
0,50			7,1	49,1	4,3	39,5	42,2	3,5	4,4	49,9	57,5
0,67			9,1	44,4	7,0	39,5	39,2	2,3	8,3	50,2	54,5
1,00 ^c			6,7	--	51,4	41,9	41,0	--	11,2	47,8	52,7
[N ₄₄₄₄]Cl: <i>n</i> -propanol											
0,33	25	30	6,2	51,1	3,9	38,8	48,9	0,3	0,3	50,5	66,5
0,50			4,4	53,7	3,9	38,0	42,4	1,6	4,8	51,2	64,5
0,67			4,0	49,4	13,5	33,1	42,7	1,1	2,8	53,4	62,8
1,00 ^c			1,5	--	71,7	26,8	36,5	--	11,4	52,1	69,7

^a As incertezas padrão (u) são u(m) = 0,1 %, u(T) = 0,2 °C e u(P) = 10 kPa. ^{b c c} Sistemas ternários compostos por: ^b [N₄₄₄₄]Cl + C₆H₅K₃O₇ + H₂O e ^c etanol/ n-propanol + C₆H₅K₃O₇ + H₂O

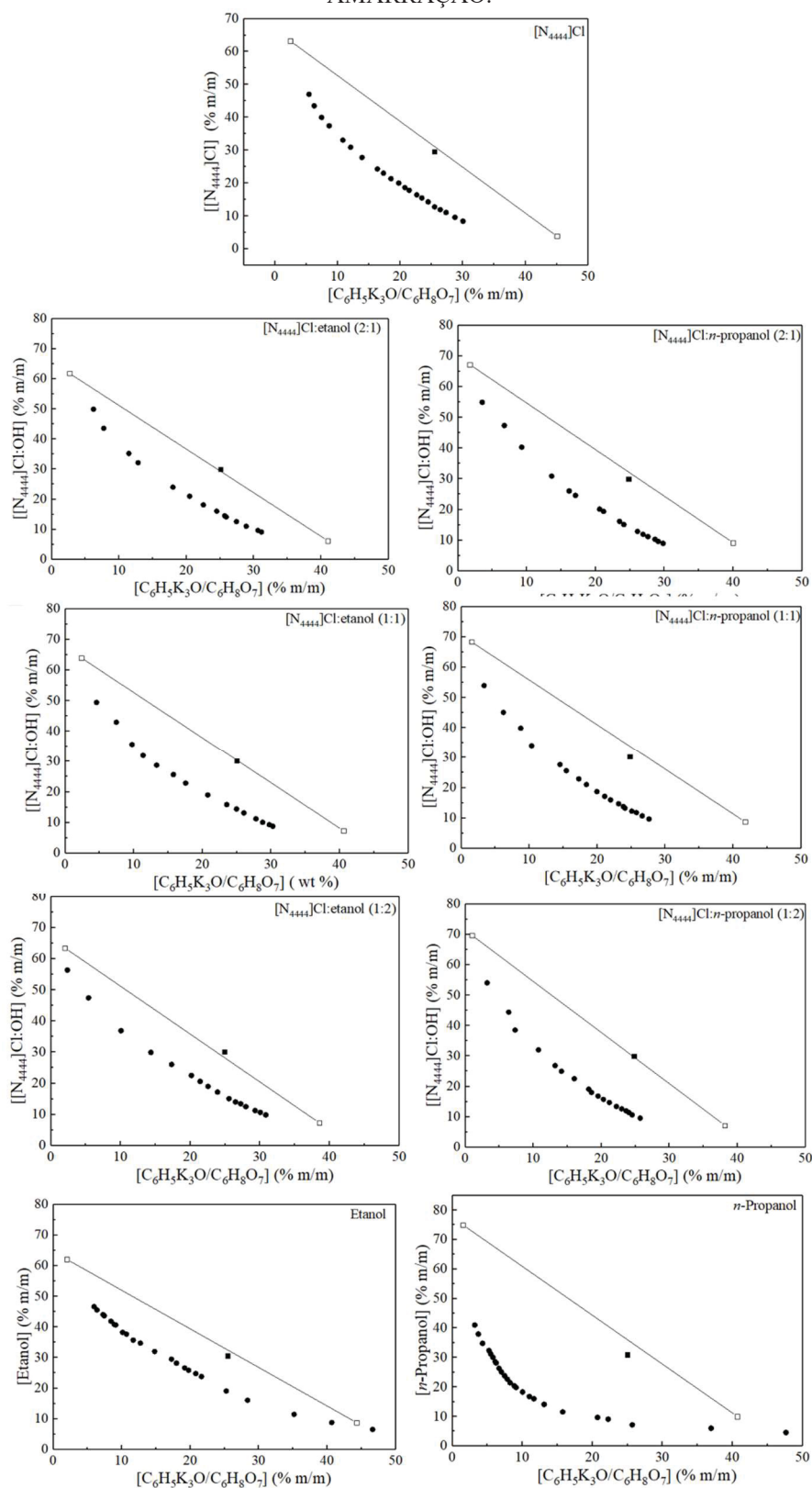
Fonte: A Autora (2018)

FIGURA 40 - REPRESENTAÇÃO PSEUDO-TERNÁRIA DOS DIAGRAMAS DE FASES DOS SISTEMAS $[N_{4444}]\text{Cl} + \text{ETANOL}/n\text{-PROPANOL} + \text{C}_6\text{H}_5\text{K}_3\text{O}_7 + \text{H}_2\text{O}$ A 25 °C, pH 9, E PRESSÃO ATMOSFÉRICA EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{4444}]\text{Cl}$: ETANOL: (A) 2:1; (B) 1:1 E (C) 1:2. (●) CURVA BINODAL, (■) COMPOSIÇÃO GLOBAL E (□) LINHAS DE AMARRAÇÃO.



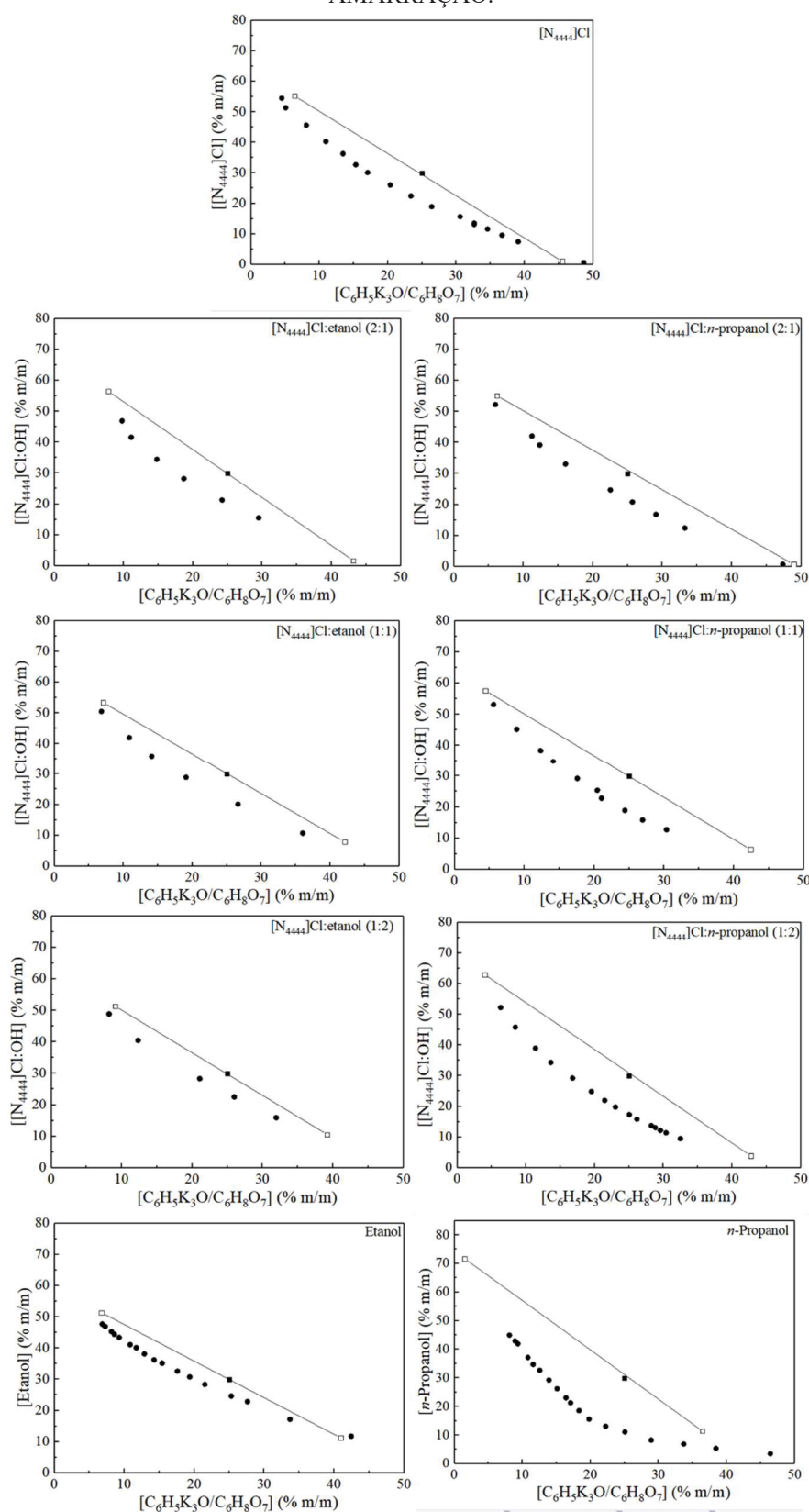
Fonte: A Autora (2018).

FIGURA 41 - REPRESENTAÇÃO PSEUDO-TERNÁRIA DOS DIAGRAMAS DE FASES DOS SISTEMAS $[N_{4444}]Cl + \text{ETANOL}/n\text{-PROPANOL} + C_6H_5K_3O_7/C_6H_8O_7 + H_2O$ A 25 °C, pH 7, E PRESSÃO ATMOSFÉRICA EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{4444}]Cl$: ETANOL: (A) 2:1; (B) 1:1 E (C) 1:2. (●) CURVA BINODAL, (■) COMPOSIÇÃO GLOBAL E (□) LINHAS DE AMARRAÇÃO.



Fonte: A Autora (2018).

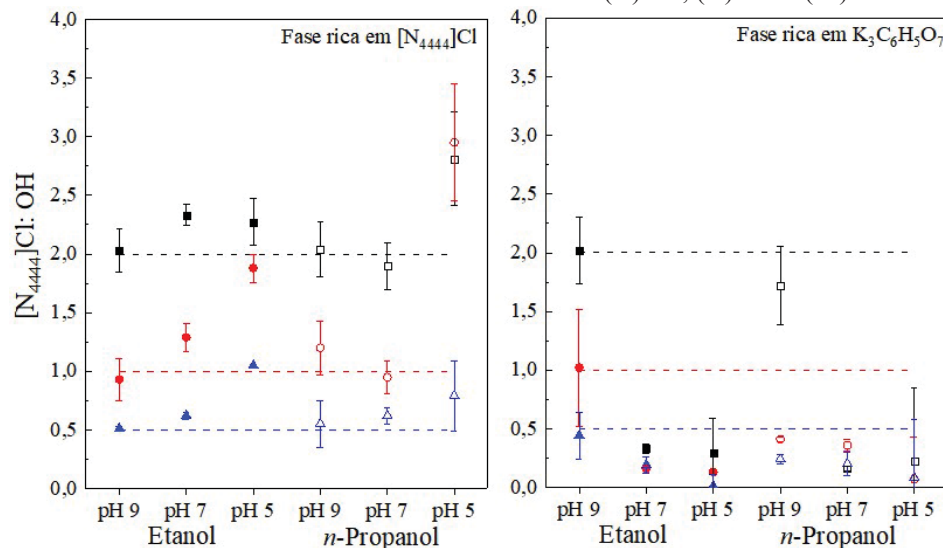
FIGURA 42 - REPRESENTAÇÃO PSEUDO-TERNÁRIA DOS DIAGRAMAS DE FASES DOS SISTEMAS $[N_{4444}]Cl + \text{ETANOL}/n\text{-PROPANOL} + C_6H_5K_3O_7/C_6H_8O_7 + H_2O$ A 25 °C, pH 5, E PRESSÃO ATMOSFÉRICA EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{4444}]Cl$: ETANOL: (A) 2:1; (B) 1:1 E (C) 1:2. (●) CURVA BINODAL, (■) COMPOSIÇÃO GLOBAL E (□) LINHAS DE AMARRAÇÃO.



Fonte: A Autora (2018)

Com o intuito de verificar a estequiometria entre o RH e DH nas fases dos SDFA a razão molar entre $[N_{4444}]\text{Cl}:\text{OH}$ foi calculada para ambas as fases, os resultados obtidos estão na FIGURA 43.

FIGURA 43 – RAZÃO MOLAR ENTRE O $[N_{4444}]\text{Cl}$ (RH) E ETANOL/ *n*-PROPANOL NA MISTURA INICIAL (LINHA TRACEJADA) E NAS FASES DOS SISTEMAS ESTUDADOS EM DIFERENTES RAZÕES MOLARES INICIAIS: (■) 2:1; (●) 1:1 E (▲) 1:2.

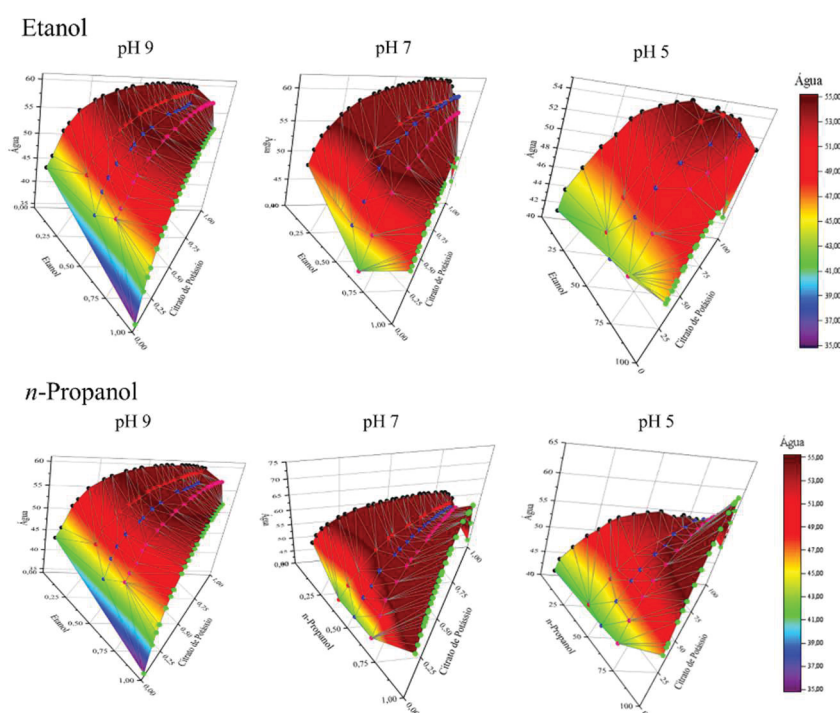


Fonte: A Autora (2018)

Nos Capítulos anteriores demonstrou-se que é possível manter a estequiometria da mistura inicial nas fases que coexistem em equilíbrio em SDFA compostos por pelo polímero (PPG) e um DES de maior caráter hidrofílico composto por $[N_{1111}(2\text{OH})]\text{Cl}$ e glucose, o que ocorreu devido à baixa solubilidade dos componentes do DES na fase polimérica e consequente partição preferencial para a fase oposta. Desta forma, definiu-se que tanto a natureza do receptor e doador de hidrogênio e dos formadores de fase devem ser consideradas para que seja possível obter sistemas com características pseudo-ternárias. No presente trabalho verificou-se a possibilidade de se manter essa estequiometria, porém agora, com polaridades opostas, com um DES de maior caráter hidrofóbico e um formador de fase de maior caráter hidrofílico (sal). Na FIGURA 43 é possível observar que estequiometria inicial RH:DH se manteve na fase rica em $[N_{4444}]\text{Cl}$ em pH 9 e 7 para ambos os álcoois avaliados. Nesses valores de pH, como já reportado, o sal de citrato existente predomina na forma dos íons $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$, o qual possui maior capacidade em causar *salting-out* das moléculas de álcoois para a fase rica em $[N_{4444}]\text{Cl}$. Na fase de fundo devido à baixa concentração desses componentes a estequiometria não se manteve. Por outro lado, em pH 5 uma maior concentração de álcool se particionou

para a fase de fundo, rica em sal, e consequentemente a estequiometria RH: DH não é mantida em nenhuma das fases dos SDFA. Esse comportamento pode ser relacionado com a presença predominante do ácido cítrico (sem carga) e das espécies $C_6H_5O_7^{2-}$ e $C_6H_5O_7^-$ dos íons de citrato a pH 5, os quais apresentam menor capacidade em induzir *salting-out* do $[N_{4444}]Cl$ e dos álcoois para a fase de topo. Desta forma, os resultados aqui apresentados sugerem que um simples ajuste do pH do sistema é suficiente para ajustar a razão RH: DH nas fases dos SDFA. A representação tridimensional desses sistemas está na FIGURA 44.

FIGURA 44 - REPRESENTAÇÃO TRIDIMENSIONAL DOS SISTEMAS QUATERNÁRIOS $[N_{4444}]Cl + \text{ÁLCOOL} + C_6H_5K_3O_7 + H_2O$ A DIFERENTES RAZÕES MOLARES DE $[N_{4444}]Cl$: OH: (●) 2:1, (●) 1:1 E (●) 1:2 E PARA OS SISTEMAS TERNÁRIOS (●) $[N_{4444}]Cl + C_6H_5K_3O_7 + H_2O$, (●) $\text{ÁLCOOL} + C_6H_5K_3O_7 + H_2O$



Fonte: A Autora (2018)

7.2. Modelagem Termodinâmica

O modelo NRTL foi utilizado para correlacionar os dados experimentais dos SDFA quaternários $[N_{4444}]Cl + OH + C_6H_5K_3O_7$ ou $C_6H_5K_3O_7/C_6H_8O_7 + H_2O$ nos diferentes valores de pH: 9, 7 e 5 a 25 °C. Os parâmetros de interação binária deste modelo estão na TABELA 16. De maneira geral o modelo foi satisfatório para a representação dos dados sendo os desvios quadráticos médio (RMSD) inferiores a 1,08 %.

TABELA 16– PARÂMETROS DO MODELO NRTL PARA OS SISTEMAS QUATERNÁRIOS
 $C_6H_5K_3O + [N_{4444}]Cl + OH + H_2O$ E $C_6H_5K_3O_7/C_6H_8O_7 + [N_{4444}]Cl + OH + H_2O$ A 25°C

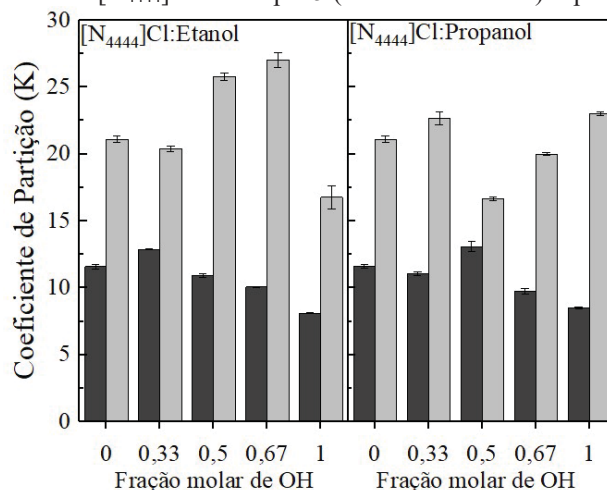
Paramêtros (i/j)	A _{0,ij} /K	A _{0,ji} /K	α _{ii}	RMSD ^a (%)
[N ₄₄₄₄]Cl + etanol + C ₆ H ₅ K ₃ O + H ₂ O – pH 9				
C ₆ H ₅ K ₃ O / [N ₄₄₄₄]Cl	8391,3	1025,6	0,20000	1,02
C ₆ H ₅ K ₃ O / OH	-50,770	2717,5	0,46997	
C ₆ H ₅ K ₃ O / H ₂ O	1154,1	6996,7	0,41407	
[N ₄₄₄₄]Cl / OH	3,6715	-105,66	0,25286	
[N ₄₄₄₄]Cl / H ₂ O	-663,33	1467,0	0,33891	
OH/ H ₂ O	-109,31	2363,5	0,33117	
[N ₄₄₄₄]Cl + <i>n</i> -propanol + C ₆ H ₅ K ₃ O + H ₂ O – pH 9				
C ₆ H ₅ K ₃ O / [N ₄₄₄₄]Cl	1973,8	809,78	0,24186	0,55
C ₆ H ₅ K ₃ O / OH	-2,8255	592,89	0,47000	
C ₆ H ₅ K ₃ O / H ₂ O	-586,14	8976,2	0,22437	
[N ₄₄₄₄]Cl / OH	-85,523	-289,23	0,47000	
[N ₄₄₄₄]Cl / H ₂ O	-259,34	973,40	0,46985	
OH/ H ₂ O	-42,291	1040,3	0,22960	
[N ₄₄₄₄]Cl + etanol + C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ /C ₆ H ₈ O ₇ + H ₂ O – pH 7				
C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ /C ₆ H ₈ O ₇ / [N ₄₄₄₄]Cl	247,32	871,04	0,22377	0,57
C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ /C ₆ H ₈ O ₇ / OH	7,9360	2366,2	0,47000	
C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ /C ₆ H ₈ O ₇ / H ₂ O	1013,2	5601,3	0,41291	
[N ₄₄₄₄]Cl / OH	14,748	375,41	0,35520	
[N ₄₄₄₄]Cl / H ₂ O	-226,88	2778,2	0,47000	
OH/ H ₂ O	714,11	1182,2	0,47000	
[N ₄₄₄₄]Cl + <i>n</i> -propanol + C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ /C ₆ H ₈ O ₇ + H ₂ O – pH 7				
C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ /C ₆ H ₈ O ₇ / [N ₄₄₄₄]Cl	1774,9	253,59	0,20000	0,72
C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ /C ₆ H ₈ O ₇ / OH	-54,686	-849,70	0,21377	
C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ /C ₆ H ₈ O ₇ / H ₂ O	-1219,5	3279,9	0,46721	
[N ₄₄₄₄]Cl / OH	-964,95	8998,5	0,34191	
[N ₄₄₄₄]Cl / H ₂ O	-1103,1	1729,5	0,34360	
OH/ H ₂ O	-595,07	1815,8	0,2000	
[N ₄₄₄₄]Cl + etanol + C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ /C ₆ H ₈ O ₇ + H ₂ O – pH 5				
C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ /C ₆ H ₈ O ₇ / [N ₄₄₄₄]Cl	948,80	163,79	0,20000	0,87
C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ /C ₆ H ₈ O ₇ / OH	-134,49	980,77	0,45023	
C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ /C ₆ H ₈ O ₇ / H ₂ O	-98,199	4374,7	0,46932	
[N ₄₄₄₄]Cl / OH	-44,492	863,51	0,32808	
[N ₄₄₄₄]Cl / H ₂ O	6540,0	4594,5	0,35315	
OH/ H ₂ O	-291,49	1143,6	0,20934	
[N ₄₄₄₄]Cl + <i>n</i> -propanol + C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ /C ₆ H ₈ O ₇ + H ₂ O – pH 5				
C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ /C ₆ H ₈ O ₇ / [N ₄₄₄₄]Cl	810,53	271,50	0,20001	1,08
C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ /C ₆ H ₈ O ₇ / OH	891,69	839,32	0,20121	
C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ /C ₆ H ₈ O ₇ / H ₂ O	-410,63	2913,3	0,46903	
[N ₄₄₄₄]Cl / OH	-188,11	3089,4	0,46990	
[N ₄₄₄₄]Cl / H ₂ O	4426,5	5964,2	0,26187	
OH/ H ₂ O	138,98	721,95	0,30796	

Fonte: A Autora (2018)

7.3. Partição de biomoléculas

Com intuito de avaliar a influência do pH na partição de biomoléculas nestes sistemas, bem como o efeito da presença do álcool, a extração de três biomoléculas de diferentes classes foi avaliada. São elas: cafeína (alcaloide), L-triptofano (aminoácido) e ácido gálico (composto fenólico). Devido as pequenas diferenças observadas entre as curvas binodais e a razão molar RH: DH nos sistemas a pH 7 e 9, apenas os sistemas a pH 5 e 9 foram escolhidos para avaliar a partição das biomoléculas. Na FIGURA 45 estão representados os valores de coeficiente de partição (K) para a molécula cafeína em diferentes razões molares de etanol/ *n*-propanol e diferentes valores de pH (5 e 9).

FIGURA 45 – COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) DA CAFEÍNA NA FASE DE TOPO DOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{4444}]Cl$ + ETANOL/ *n*-PROPANOL + $C_6H_5K_3O_7$ + H_2O A DIFERENTES FRAÇÕES MOLARES DE $[N_{4444}]Cl:OH$ A pH 5 (CINZA ESCURO) E pH 9 (CINZA CLARO).

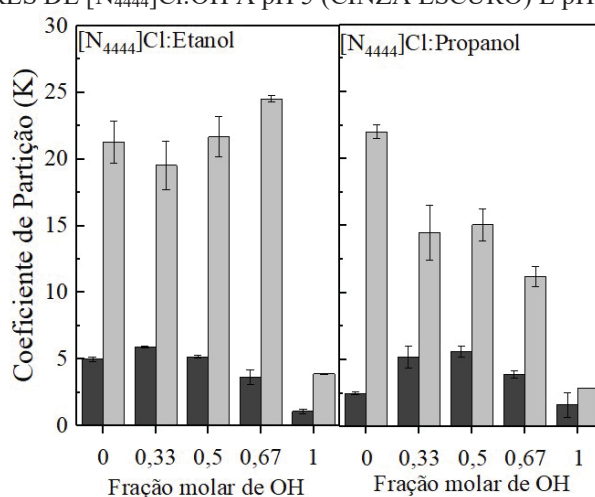


Fonte: A Autora (2018)

A cafeína, um alcaloide, não sofre especiação química com o pH de acordo com sua curva de especiação química, então, em ambos os valores de pH avaliados a cafeína é encontrada na sua forma não carregada. Portanto, considerando apenas as características da cafeína as alterações de pH não deveriam afetar o comportamento da partição, e quaisquer alterações observadas nos valores de K estão relacionadas a mudanças nas propriedades das fases. Desta forma, maiores coeficientes de partição em pH 9 em comparação ao sistema em pH 5 são resultantes da maior capacidade dos íons citratos, nestas condições, em causar *salting-out* na cafeína para a fase rica em $[N_{4444}]Cl$, como discutido previamente.

Para o aminoácido, L-triptofano, os coeficientes de partição obtidos estão na FIGURA 46. Em pH 5, o L-triptofano é encontrado na forma de zwitterion, ou seja, não possui carga líquida (TOMÉ; CATAMBAS; TELES; et al., 2010; ZAFARANI-MOATTAR; HAMZEZHAADEH, 2011b). Em pH 9 cerca de 70 % das espécies são encontradas sem carga líquida e 30 % na forma de íons monovalentes carregados negativamente, de acordo com sua curva de especiação química. Assim como a cafeína em pH 9 foram obtidos maiores valores de K devido a maior capacidade do sal em causar *salting-out* nessas condições o que favorece a transferência de massa deste aminoácido para a fase rica em $[N_{4444}]\text{Cl}$. É importante destacar a influência do $[N_{4444}]\text{Cl}$ na partição do L-triptofano, considerando os altos valores de K na presença de $[N_{4444}]\text{Cl}$ em relação aos sistemas ternários compostos por etanol/*n*-propanol + $\text{C}_6\text{H}_5\text{K}_3\text{O}_7/\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 + \text{H}_2\text{O}$. Um comportamento similar foi observado quando a biomolécula L-triptofano foi particionada com o $[N_{111}(2\text{OH})]\text{Cl}$, o que reforça a existência de interações específicas entre os sais quaternários de amônio e esse aminoácido. Neste trabalho, essas interações são essencialmente dispersivas, embora as interações coulombianas entre o cátion do sal quaternário de amônio e o aminoácido carregado negativamente não possam ser descartadas.

FIGURA 46 - COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) DO L-TRIPTOFANO NA FASE DE TOPO DOS SDFA COMPOSTOS POR $[N_{4444}]\text{Cl}$ + ETANOL/ *n*-PROPANOL + $\text{C}_6\text{H}_5\text{K}_3\text{O}_7 + \text{H}_2\text{O}$ A DIFERENTES FRAÇÕES MOLARES DE $[N_{4444}]\text{Cl}:\text{OH}$ A pH 5 (CINZA ESCURO) E pH 9 (CINZA CLARO).

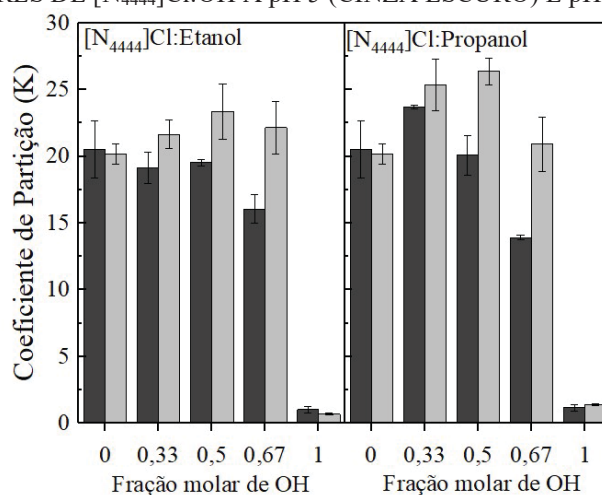


Fonte: A Autora (2018)

Na sequência avaliou-se a partição do composto fenólico ácido gálico, o qual é a biomolécula com maior especiação química dentre as biomoléculas avaliadas. O coeficiente de partição do ácido gálico nos sistemas em estudo podem ser observados na FIGURA 47. De acordo com a curva de especiação do ácido gálico, em soluções com

$3,9 < \text{pH} < 9,0$ é carregado negativamente com ânions mono e divalentes. Em pH 5 as cargas divalentes negativas são predominantes (em torno de 90 %) enquanto em pH 9 as espécies monovalentes e divalentes são encontradas em igual quantidade (50/50 %). A predominância das cargas negativas divalentes em pH 5 contribuem para a baixa partição das biomoléculas para a fase rica em $[\text{N}_{4444}]\text{Cl}$ e consequentemente menores valores de K foram obtidos em relação ao pH 9. Em pH 9 um pequeno aumento nos valores de K foi observado em função do *salting-out* dos íons citrato. Além disso, assim como observado para os íons L-triptofano, analisando os sistemas ternários (etanol/*n*-propanol + $\text{C}_6\text{H}_5\text{K}_3\text{O}_7/\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 + \text{H}_2\text{O}$) em relação aos sistemas quaternários, o $[\text{N}_{4444}]\text{Cl}$ também aparentou possuir grande influência na partição do ácido gálico. Nos sistemas ternários, etanol/*n*-propanol + $\text{C}_6\text{H}_5\text{K}_3\text{O}_7/\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 + \text{H}_2\text{O}$, a fase de topo é rica em álcool a qual é predominantemente não carregada e induz a partição preferencial do ácido gálico para a fase salina. Este comportamento está de acordo com o previamente reportado na literatura onde espécies não carregadas de ácido gálico tendem a se particionar para a fase mais hidrofóbica enquanto que espécies carregadas tendem a se particionar para a fase mais hidrofílica (CLÁUDIO; FERREIRA; FREIRE; et al., 2012). Este fato reforça a alta afinidade entre o ácido gálico e o $[\text{N}_{4444}]\text{Cl}$.

FIGURA 47 – COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) DO ÁCIDO GÁLICO NA FASE DE TOPO DOS SDFA COMPOSTOS POR $[\text{N}_{4444}]\text{Cl}$ + ETANOL/ *n*-PROPANOL + $\text{C}_6\text{H}_5\text{K}_3\text{O}_7 + \text{H}_2\text{O}$ A DIFERENTES FRAÇÕES MOLARES DE $[\text{N}_{4444}]\text{Cl}:\text{OH}$ A pH 5 (CINZA ESCURO) E pH 9 (CINZA CLARO).



Fonte: A Autora (2018)

No que diz respeito a presença dos álcoois nos sistemas, em pH 9, os coeficientes de partição para todas as biomoléculas em análise aparentam aumentar com a presença do etanol, enquanto que, com o *n*-propanol as biomoléculas apresentam uma tendência em se particionar para a fase oposta (rica em sal). Uma exceção, é a partição do ácido

gálico em pH 9, onde o K aumenta com o aumento da concentração de n -propanol. Além disso para todas as biomoléculas os maiores valores de K foram obtidos para os sistemas quaternários de razão molar 1:1 e 1:2 ([N₄₄₄₄]Cl: OH os quais podem ser atribuídos as propriedades das fases. Todos os dados de coeficiente de partição e eficiência na extração estão no APÊNDICE E. Como discutido anteriormente, em meio ácido os íons do sal apresentam menor carga e conseqüentemente menor efeito cosmotrópico (menor habilidade em causar *salting-out*) sobre as biomoléculas avaliadas. Desta forma, para manipular a partição das biomoléculas de interesse uma combinação de fatores como as interações hidrofóbicas/ hidrofílicas e eletrostáticas, e o efeito *salting-out* devem ser considerados. Os sistemas aqui avaliados demonstraram ser versáteis para a particionar biomoléculas de diferentes classes. A possibilidade de se trabalhar em uma larga faixa de pH pode ser interessante considerando a aplicação desse tipo de SDFA para a extração de biomoléculas sensíveis a mudanças de pH, o que torna esses sistemas potenciais para a aplicação na separação e/ou purificação de diferentes biomoléculas de alto valor agregado.

7.4. Considerações Finais

Neste capítulo foram propostos novos tipos de DES-SDFA os quais se demonstraram ser versáteis, sendo possível alterar as propriedades das fases dos sistemas alterando a natureza do DH utilizado e/ou o pH do sistema. Além disso, foram obtidos DES-sal com características pseudo-ternárias, ou seja, onde a estequiometria entre doador e receptor de hidrogênio se mantém nas fases dos sistemas. Este comportamento foi obtido através da escolha de um DES de menor caráter hidrofílico o qual é facilmente excluído pelo sal de citrato para uma nova fase. As alterações observadas nas propriedades das fases dos sistemas em função da mudança de pH são resultado da especiação química do sal de citrato, o qual tem sua capacidade em realizar *salting-out* reduzida com a acidificação do meio. Essa possibilidade de alterar as propriedades das fases também pode ser usada para manipular a partição de biomoléculas nesses sistemas. Observou-se ainda, que além da natureza do DES, o pH do meio apresentou um papel importante na partição das biomoléculas aqui estudadas. De maneira geral, os resultados apresentados nesse capítulo demonstram que fatores externos, como o pH, também podem ser utilizados para guiar a partição dos componentes formadores dos DES, alterar as propriedades das fases e manipular a partição de uma biomolécula alvo.

PARTE III

Considerações Finais

Nesta parte serão apresentadas as conclusões, produção científica, referências bibliográficas e apêndices deste trabalho.

CAPÍTULO 8 – Conclusões e Produção Científica

8.1. Conclusões

Os SDFA compostos por DES foram recentemente explorados na literatura apresentando altos índices de extração de biomoléculas, principalmente as proteínas. Entretanto, verificou-se que em grande parte dos trabalhos os autores dedicaram seus esforços unicamente para avaliar a partição de biomoléculas sem se preocupar com o mecanismo de formação dos SDFA, ou com a integridade dos DES no sistema aquoso.

Considerando que os DES são pouco estáveis em soluções aquosas, em termos de processo, torna-se de grande importância conhecer o comportamento do ELL e a composição das fases dos sistemas para uma melhor discussão dos mecanismos de formação de fases e de extração. Com a análise da composição das fases dos SDFA, nos primeiros sistemas avaliados nesta tese, verificou-se que há uma distribuição não estequiométrica entre doador e receptor de hidrogênio nas fases dos sistemas, o que demonstra a quebra das ligações de hidrogênio dos DES devido ao alto teor de água nos SDFA. Levando em consideração a partição dos componentes dos DES, pode-se concluir que os SDFA baseados em DES são na realidade sistemas quaternários.

Os dados de composição das fases de sistemas quaternários devem ser obtidos analiticamente, desta forma nesse trabalho, foram propostas técnicas como TGA e ^1H RMN, dentre outras, de acordo com os compostos formadores de cada sistema, as quais se demonstraram adequadas para a aplicação em questão.

Verificou-se ainda que é possível obter DES-SDFA onde ocorre a partição estequiométrica dos componentes dos DES entre as fases do sistema aquoso, embora não existam evidências sobre a estabilidade dos DES nesses sistemas, eles podem ser tratados como pseudo-ternários. Para que a obtenção de um sistema com características pseudo-ternárias ocorra deve se levar em consideração as características de hidrofiliidade/hidrofobicidade dos componentes formadores do DES e do agente formador de fase (sal ou polímero). Para DES de caráter mais hidrofílico deve-se utilizar um formador de fase de caráter mais hidrofóbico, como o polímero poli(propileno)glicol, por exemplo.

Desta forma, torna-se essencial considerar a estabilidade dos DES e como os seus componentes se particionam entre as fases dos sistemas sempre que se tratar da

utilização desses solventes em SDFA. Conclui-se que, receptor e doador de hidrogênio passam a atuar individualmente na formação do SDFA, os quais irão definir as propriedades do sistema e para quais finalidades poderão ser aplicados. A partir desse ponto entende-se que ao utilizar os DES em SDFA estamos trabalhando com solventes multicomponentes os quais devem ser obtidos em função das moléculas de interesse, os chamados *designer solvents*. Entende-se ainda que se torna necessário conhecer as características de cada componente que será adicionado ao sistema e seu comportamento no SDFA e assim manipular as propriedades das fases em equilíbrio de acordo com o composto de interesse a ser particionado nesses sistemas.

Analisando o papel de cada um dos componentes formadores do sistema, verificou-se, de maneira geral, que a molécula receptora de hidrogênio tende a atuar primordialmente na obtenção do SDFA juntamente com o sal/polímero, enquanto a moléculas doadoras de hidrogênio são as principais responsáveis em promover modificações nas propriedades das fases dos sistemas, atuando muitas vezes como aditivos e alterando o comportamento de partição de biomoléculas nesses sistemas. Os doadores de hidrogênio, apresentam influência tanto positiva, aumentando a região bifásica, quanto negativa, reduzindo a região bifásica. Alguns inclusive são capazes de formar SDFA mesmo na ausência do receptor de hidrogênio. É importante ressaltar, que em alguns casos em particular, ocorre uma inversão de funções, onde o doador de hidrogênio parece atuar como formador de fase e o receptor como aditivo ao sistema.

A possibilidade de se utilizar compostos de características diversas na obtenção dos DES resulta na grande versatilidade dos DES-SDFA, obtendo-se sistemas com fases de diferentes propriedades as quais podem ser definidas de acordo com a aplicação desejada. Sendo assim, esses sistemas podem ser aplicados no âmbito dos *designers solvents*, ou seja, de solventes desenvolvidos para obter as características necessárias para separar, purificar e estabilizar cada biomolécula de interesse.

A aplicabilidade dos sistemas quaternários na separação de biomoléculas foi demonstrada neste trabalho, utilizando biomoléculas modelo, como aminoácidos, compostos fenólicos e alcaloides. Avaliou-se a influência de cada componente dos DES no coeficiente de partição e eficiência da extração destes sistemas, e como estes podem ser utilizados para delinear o processo de partição de acordo com as propriedades das biomoléculas de interesse.

8.2. Desafios Futuros

Os desafios futuros quanto a utilização desses sistemas está no âmbito de encontrar padrões de comportamento que tornem possível prever o mecanismo de formação dos SDFA a partir dos diferentes componentes (doador e receptor de hidrogênio) que o compõe, visto que a natureza e propriedades físico-químicas desses irão influenciar diretamente na formação das fases. Lembrando que o efeito *salting-out*, a formação dos complexos de hidratação, propriedades termodinâmicas, comportamento da partição são fatores que devem ser considerados para descrever esses sistemas.

Além disso a versatilidade destes sistemas deve ser explorada quanto a sua aplicação para obtenção de compostos de interesse para a indústria alimentícia, química e farmacêutica.

8.3. Produção Científica

Artigos Publicados em periódicos

FARIAS, F. O.; PASSOS, H.; COUTINHO, J. A. P.; MAFRA, M. R. The pH effect on the formation of deep-eutectic-solvent-based aqueous two-phase system. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, 2018. DOI: 10.1021/acs.iecr.8b04256. JCR: 3.141; Qualis: A1.

FARIAS, F. O.; PASSOS, H.; SANGLARD, M. G.; IGARASHI-MAFRA, L.; COUTINHO, J. A. P.; MAFRA, M. R. Designer solvent ability of alcohols in aqueous biphasic systems composed of deep eutectic solvents and potassium phosphate. **Separation and Purification Technology**, v. 200, p. 84–93, 2018. DOI: 10.1016/j.seppur.2018.02.029. JCR: 3.927; Qualis: A1.

FARIAS, F. O.; PASSOS, H.; LIMA, Á. S.; MAFRA, M. R.; COUTINHO, J. A. P. Is It Possible to Create Ternary-like Aqueous Biphasic Systems with Deep Eutectic Solvents? **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 5, n. 10, p. 9402–9411, 2017. DOI: 10.1021/acssuschemeng.7b02514. JCR: 6.140; Qualis: A1.

FARIAS, F. O.; SOSA, F. H. B.; IGARASHI-MAFRA, L.; COUTINHO, J. A. P.; MAFRA, M. R. Study of the pseudo-ternary aqueous two-phase systems of deep eutectic solvent (choline chloride: sugars) + K_2HPO_4 + water. **Fluid Phase Equilibria**, v. 448, p. 143–151, 2017. DOI: 10.1016/j.fluid.2017.05.018. JCR: 2.197; Qualis: A2

COLABORAÇÕES

SANGLARD, M. G.; FARIAS, F. O.; HOBI, F.; SOSA, B.; SANTOS, T. P. M.; IGARASHI-MAFRA, L.; MAFRA, M. R. Measurement and correlation of aqueous biphasic systems composed of alcohol (1-propanol/2-propanol/tert-butanol) + $(NH_4)_2SO_4$ + H_2O at 298 K and a textile dye partition. **Fluid Phase Equilibria**, v. 466, p. 7-13, 2018. DOI: 10.1016/j.fluid.2018.03.009. JCR: 2.197; Qualis: A2.

SOSA, F. H. B.; FARIAS, F. O.; IGARASHI-MAFRA, L.; MAFRA, M. R. Measurement and correlation of aqueous two-phase systems of polyvinylpyrrolidone (PVP) and manganese sulfate: Effects of molecular weight and temperature. **Fluid Phase Equilibria**, v. 472, p. 204-211, 2018. **DOI:** 10.1016/j.fluid.2018.05.021. **JCR:** 2.197; **Qualis:** A2

SOSA, F. H. B.; DE ARAUJO SAMPAIO, D.; FARIAS, F. O.; BONASSOLI, A. B. G.; IGARASHI-MAFRA, L.; MAFRA, M. R. Measurement and correlation of phase equilibria in aqueous two-phase systems containing polyethylene glycol (2000, 4000, and 6000) and sulfate salts (manganese sulfate and copper sulfate) at different temperatures (298.15, 318.15, and 338.15 K). **Fluid Phase Equilibria**, v. 449, p. 68–75, 2017. **DOI:** 10.1016/j.fluid.2017.06.009. **JCR:** 2.197; **Qualis:** A2.

Apresentação de Trabalhos e Participação em Eventos

13th International Chemical and biological Engineering Conference – Apresentação de trabalho. FARIAS, F. O.; PASSOS, H.; COUTINHO, J. A. P.; MAFRA, M. Deep-eutectic-solvents-bases aqueous biphasic systems: the pH effect. **ChemPor**, 2018

I Simpósio Ibero-Americano sobre Sistemas Aquosos Bifásicos – Apresentação de trabalho. FARIAS, F. O.; PASSOS, H.; COUTINHO, J. A. P.; MAFRA, M. Sistemas aquosos bifásicos compostos por solventes eutéticos profundos empregados no desenvolvimento de solventes biocompatíveis. **I SISAB**, 2018.

III Simpósio Paranaense de modelagem, simulação e controle de processos – Participação e apresentação de trabalho. FARIAS, F. O., SOSA, F. H. B., MAFRA, M. R. Thermodynamic modeling of pseudo-ternary aqueous two phase systems with deep eutectic solvents. **II SIMPROC**, 2018.

IX - Congresso Brasileiro de Termodinâmica Aplicada: participação e apresentação de trabalho. FARIAS, F. O.; PASSOS, H.; SANGLARD, M. G.; COUTINHO, J. A. P.; MAFRA, M. R. Study of the ethanol effect on biomolecules partition in DES-based aqueous two-phase systems. **CbTermo**, 2017.

2nd Edition of Path Spring Workshop, Aveiro University - Workshop of DES: Participação e apresentação de trabalho. FARIAS, F. O., PASSOS, H., COUTINHO, J. A.P., MAFRA, M. R. Study of the quaternary aqueous biphasic systems of cholinium chloride + ethanol/ propanol + K₂HPO₄ + water: the alcohol effect. **Workshop of DES**, 2017.

COLABORAÇÕES:

Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica: apresentação de trabalho. SANGLARD, M. G; FARIAS, F. O.; SOSA, F. H. B.; MAFRA, M. R.; IGARASHI-MAFRA, L. Determinação experimental e modelagem termodinâmica de sistemas de duas fases aquosas composto por n-propanol e sulfato de amônio aplicado na separação do corante azul brilhante de remazol R. **COBEQ IC**, 2017.

II Simpósio Paranaense de modelagem, simulação e controle de processos – Participação e apresentação de trabalho. SOSA, F. H. B., FARIAS, F. O., SANGLARD, M. G., IGARASHI-MAFRA, L., MAFRA, M. R. Liquid-liquid equilibrium data of an aqueous two-phase system containing polyethyleneglycol (1000/ 15000/ 2000) and ammonium sulfate: experimental determination and thermodynamic modeling. **II SIMPROC**, 2017.

XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química – apresentação de trabalho. SOSA, F. H. B., SAMPAIO, D. de A. S., FARIAS, F. O., MAFRA, M. R., IGARASHI-MAFRA, L. Obtenção de dados de equilíbrio para o sistema de duas fases aquosas composto por (NH₄)₂SO₄ + PEG + H₂O a 25 e 45 °C pela metodologia proposta por Merchuk (1998). **XXI COBEQ**, 2016.

II Encontro do Programa de Engenharia de Alimentos da UFPR – participação e apresentação de trabalho. FARIAS, F. O., MAFRA, M. R. Análise de titulação isotérmica (ITC) aplicada a engenharia de alimentos. **II EPEAL**, 2015.

CAPÍTULO 9 – Referências e Apêndices

REFERÊNCIAS

ABBOTT, A. P.; BOOTHBY, D.; CAPPER, G.; DAVIES, D. L.; RASHEED, R. K. Deep Eutectic Solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: Versatile alternatives to ionic liquids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 29, p. 9142–9147, 2004.

ABBOTT, A. P.; CAPPER, G.; DAVIES, D. L.; RASHEED, R. K.; TAMBYRAJAH, V. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. **Chemical communications (Cambridge, England)**, n. 1, p. 70–71, 2003.

ALBERTSSON, P.-A.; CAJARVILLE, A.; BROOKS, D. E.; TJERNELD, F. Partition of proteins in aqueous polymer two-phase systems and the effect of molecular weight of the polymer. **Biochimica et biophysica acta**, v. 926, n. 1, p. 87–93, 1987.

ALBERTSSON, P.-A.; TJERNELD, F. Phase Diagrams. **Method. Enzymol.**, v. 228, p. 3–13, 1994.

ALBERTSSON, P. Å. A. Erratum: Partition of proteins in liquid polymer-polymer two-phase systems (Nature (1958) 182, 4640). **Nature**, v. 182, n. 4640, p. 918, 1958.

ALMEIDA, M. R.; PASSOS, H.; PEREIRA, M. M.; LIMA, Á. S.; COUTINHO, J. A. P.; FREIRE, M. G. Ionic liquids as additives to enhance the extraction of antioxidants in aqueous two-phase systems. **Separation and Purification Technology**, v. 128, p. 1–10, 2014.

ASENJO, J. A.; ANDREWS, B. A. Aqueous two-phase systems for protein separation: A perspective. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 49, p. 8826–8835, 2011.

ASENJO, J. A.; ANDREWS, B. A. Aqueous two-phase systems for protein separation: Phase separation and applications. **Journal of Chromatography A**, v. 1238, n. September 2011, p. 1–10, 2012.

BAGHLANI, M.; SADEGHI, R. Thermodynamics investigation of phase behavior of deep eutectic solvents-polymer aqueous biphasic systems. **Polymer**, v. 143, p. 115–128, 2018.

BENAVIDES, J.; RITO-PALOMARES, M.; ASENJO, J. A. Aqueous Two-Phase Systems. **Comprehensive Biotechnology**, n. FEBRUARY 2011, p. 697–713, 2011.

BI, W.; TIAN, M.; ROW, K. H. Evaluation of alcohol-based deep eutectic solvent in extraction and determination of flavonoids with response surface methodology optimization. **Journal of Chromatography A**, v. 1285, p. 22–30, 2013.

BRIDGES, N. J.; GUTOWSKI, K. E.; ROGERS, R. D. Investigation of aqueous biphasic systems formed from solutions of chaotropic salts with kosmotropic salts (salt-salt ABS). **Green Chemistry**, v. 9, n. 2, p. 177, 2007.

CABEZAS, H. Theory of phase formation in aqueous two-phase systems. **Journal of chromatography. B, Biomedical applications**, v. 680, p. 3–30, 1996.

- CACACE, M. G.; LANDAU, E. M.; RAMSDEN, J. J. The Hofmeister series: salt and solvent effects on interfacial phenomena. **Quarterly Reviews of Biophysics**, v. 30, n. 3, p. 241–277, 1997.
- CLÁUDIO, A. F. M.; FERREIRA, A. M.; FREIRE, C. S. R.; SILVESTRE, A. J. D.; FREIRE, M. G.; COUTINHO, J. A. P. Optimization of the gallic acid extraction using ionic-liquid-based aqueous two-phase systems. **Separation and Purification Technology**, v. 97, p. 142–149, 2012.
- CUNHA, E. V. C.; AZNAR, M. Liquid - Liquid Equilibrium in Aqueous Two-Phase (Water + PEG 8000 + Salt): Experimental Determination and Thermodynamic Modeling. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 54, p. 3242–3246, 2009.
- DA SILVA, L. H. M.; LOH, W. Calorimetric Investigation of the Formation of Aqueous Two-Phase Systems in Ternary Mixtures of Water, Poly(ethylene oxide) and Electrolytes (Or Dextran). **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 104, n. 43, p. 10069–10073, 2000.
- DAI, Y.; VAN SPRONSEN, J.; WITKAMP, G. J.; VERPOORTE, R.; CHOI, Y. H. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. **Analytica Chimica Acta**, v. 766, p. 61–68, 2013.
- DAI, Y.; WITKAMP, G.-J.; VERPOORTE, R.; CHOI, Y. H. Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications. **Food Chemistry**, v. 187, p. 14–19, 2015.
- DAI, Y.; WITKAMP, G. J.; VERPOORTE, R.; CHOI, Y. H. Natural deep eutectic solvents as a new extraction media for phenolic metabolites in carthamus tinctorius L. **Analytical Chemistry**, v. 85, n. 13, p. 6272–6278, 2013.
- DUAN, L.; DOU, L.-L.; GUO, L.; LI, P.; LIU, E.-H. Comprehensive evaluation of deep eutectic solvents in extraction of bioactive natural products. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 4, n. 4, p. 2405–2411, 2016.
- DUPONT, D.; DEPUYDT, D.; BINNEMANS, K. Overview of the Effect of Salts on Biphasic Ionic Liquid/Water Solvent Extraction Systems: Anion Exchange, Mutual Solubility, and Thermomorphic Properties. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 119, n. 22, p. 6747–6757, 2015.
- DURAND, E.; LECOMTE, J.; BARÉA, B.; PIOMBO, G.; DUBREUCQ, E.; VILLENEUVE, P. Evaluation of deep eutectic solvents as new media for *Candida antarctica* B lipase catalyzed reactions. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 12, p. 2081–2089, 2012.
- DURAND, E.; LECOMTE, J.; VILLENEUVE, P. Deep eutectic solvents: Synthesis, application, and focus on lipase-catalyzed reactions. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 115, n. 4, p. 379–385, 2013.
- DURAND, E.; LECOMTE, J.; VILLENEUVE, P. From green chemistry to nature: The versatile role of low transition temperature mixtures. **Biochimie**, v. 120, p. 119–123, 2015.
- ESPINO, M.; DE LOS ÁNGELES FERNÁNDEZ, M.; GOMEZ, F. J. V.; SILVA, M. F. Natural designer solvents for greening analytical chemistry. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 126–136, 2016.

- FARIAS, F. O.; PASSOS, H.; SANGLARD, M. G.; IGARASHI-MAFRA, L.; COUTINHO, J. A. P.; MAFRA, M. R. Designer solvent ability of alcohols in aqueous biphasic systems composed of deep eutectic solvents and potassium phosphate. **Separation and Purification Technology**, v. 200, p. 84–93, 2018.
- FARIAS, F. O.; SOSA, F. H. B.; IGARASHI-MAFRA, L.; COUTINHO, J. A. P.; MAFRA, M. R. Study of the pseudo-ternary aqueous two-phase systems of deep eutectic solvent (choline chloride:sugars) + K_2HPO_4 + water. **Fluid Phase Equilibria**, v. 448, p. 143–151, 2017.
- FERREIRA, A. M.; CLÁUDIO, A. F. M.; VÁLEGA, M.; DOMINGUES, F. M. J.; SILVESTRE, A. J. D.; ROGERS, R. D.; COUTINHO, J. A. P.; FREIRE, M. G. Switchable (pH-driven) aqueous biphasic systems formed by ionic liquids as integrated production–separation platforms. **Green Chem.**, v. 19, n. 12, p. 2768–2773, 2017.
- FREIRE, M. G.; CLÁUDIO, A. F. M.; ARAÚJO, J. M. M.; COUTINHO, J. A. P.; MARRUCHO, I. M.; LOPES, J. N. C.; REBELO, L. P. N. Aqueous biphasic systems: a boost brought about by using ionic liquids. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 14, p. 4966, 2012.
- FREIRE, M. G.; LOUROS, C. L. S.; REBELO, L. P. N.; COUTINHO, J. A. P. Aqueous biphasic systems composed of a water-stable ionic liquid + carbohydrates and their applications. **Green Chemistry**, v. 13, n. 6, p. 1536, 2011.
- GARCÍA, A.; RODRÍGUEZ-JUAN, E.; RODRÍGUEZ-GUTIÉRREZ, G.; RIOS, J. J.; FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, J. Extraction of phenolic compounds from virgin olive oil by deep eutectic solvent (DES). **Food Chemistry**, v. 197, p. 554–561, 2015.
- GARCIA, G.; APARICIO, S.; ULLAH, R.; ATILHAN, M. Deep Eutectic Solvents: Physicochemical Properties and Gas Separation Applications. **Energy & Fuels**, v. 29, p. 2616–2644, 2015.
- GRABER, T. A.; MEDINA, H.; GALLEGUILLOS, H. R.; TABOADA, M. E. Phase Equilibrium and Partition of Iodide in an Aqueous Biphasic System Formed by $(NH_4)_2SO_4$ + PEG + H_2O at 25 °C. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 52, n. 4, p. 1262–1267, 2007.
- GREVE, A.; KULA, M. R. Phase diagrams of new aqueous phase systems composed of aliphatic alcohols, salts and water. **Fluid Phase Equilibria**, v. 62, n. 1–2, p. 53–63, 1991.
- GUTOWSKI, K. E.; BROKER, G. A.; WILLAUER, H. D.; HUDDLESTON, J. G.; SWATLOSKI, R. P.; HOLBREY, J. D.; ROGERS, R. D. Controlling the Aqueous Miscibility of Ionic Liquids : Aqueous Biphasic Systems of Water-Miscible Ionic Liquids and Water-Structuring Salts for Recycle , Metathesis , and Separations. **Journal of American Chemical Society**, p. 6632–6633, 2003.
- HAYYAN, A.; MJALLI, F. S.; ALNASHEF, I. M.; AL-WAHAIBI, Y. M.; AL-WAHAIBI, T.; HASHIM, M. A. Glucose-based deep eutectic solvents: Physical properties. **Journal of Molecular Liquids**, v. 178, p. 137–141, 2013.
- HOFMEISTER, F. F. Zur Lehre von der Wirkung der Salze. **Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie**, v. 25, n. 1, p. 1–30, 1888.
- HU, M.; WANG, M.; LI, S.; JIANG, Y.; GUO, H. Liquid–liquid equilibria for water+1-propanol/2-propanol+potassium chloride+cesium chloride quaternary systems at

298.1±0.1K. **Fluid Phase Equilibria**, v. 263, n. 1, p. 109–114, 2008.

HUDDLESTON, J.; VEIDE, A.; KÖHLER, K.; FLANAGAN, J.; ENFORS, S. O.; LYDDIATT, A. The molecular basis of partitioning in aqueous two-phase systems. **Trends in biotechnology**, v. 9, n. 11, p. 381–388, 1991.

JOHANSSON, G. Partitioning Procedures and Techniques: Small Molecules and Macromolecules. **Methods in Enzymology**, v. 228, p. 28–42, 1994.

JONES, D.; OWEN, A. G.; FARRAR, J. F. Simple method to enable the high resolution determination of total free amino acids in soil solutions and soil extracts. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 34, n. 12, p. 1893–1902, 2002.

KAUL, A. The Phase Diagram. In: R, H.-K. (Ed.). . **Aqueous Two-Phase Systems: Methods and Protocols**. Totowa, NJ: Humana Press Inc., 2000. v. 11p. 11–21.

KURNIA, K. A.; FREIRE, M. G.; COUTINHO, A. P. Effect of Polyvalent Ions in the Formation of Ionic-Liquid-Based Aqueous Biphasic Systems. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 8, n. 118, p. 297–308, 2013.

LI, N.; WANG, Y.; XU, K.; HUANG, Y.; WEN, Q.; DING, X. Development of green betaine-based deep eutectic solvent aqueous two-phase system for the extraction of protein. **Talanta**, v. 152, p. 23–32, 2016.

LI, P.; ZHAO, P.; LIU, W.; JIANG, Y.; WANG, W.; BAO, L.; JIN, Y.; LI, X. Determination of common ginsenosides in Kang'ai injection by aqueous two-phase extraction with deep eutectic solvents and HPLC-UV/DAD. **Microchemical Journal**, v. 137, p. 302–308, 2018.

LI, Y.; YANG, S.; ZHANG, W.; LU, X.; YANG, H.; HU, J. Phase equilibria and salt effect on the aqueous two-phase system of ethanol + 2-propanol + salt [(NH₄)₂SO₄/Na₂SO₄] + water. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 127, n. 3, p. 2473–2487, 2017.

LI, Y.; ZHAO, Y.; HUANG, R.; CUI, Q.; LU, X.; GUO, H. A thermodynamic study on the phase behaviour of ethanol and 2-propanol in aqueous ammonium sulphate/sodium sulphate solution. **Journal of Molecular Liquids**, v. 211, p. 924–933, 2015.

LO NOSTRO, P.; NINHAM, B. W. Hofmeister phenomena: an update on ion specificity. Nostro, P., & Ninham, B. W. (2012). Hofmeister phenomena: an update on ion specificity in biology. *Chemical Reviews*, 112(4), 2286–322. doi:10.1021/cr200271j. **Chemical reviews**, v. 112, n. 4, p. 2286–322, 2012.

LU, Y.; HAO, T.; HU, S.; HAN, J.; TAN, Z.; YAN, Y. Measurement and correlation of phase diagram data for acetone and sulfate aqueous two-phase systems at different temperatures. **Thermochimica Acta**, v. 568, p. 209–217, 2013.

MARCILLA, A.; RUIZ, F.; GARCÍA, A. N. Liquid-liquid-solid equilibria of the quaternary system water-ethanol-acetone-sodium chloride at 25 °C. **Fluid Phase Equilibria**, v. 112, n. 2, p. 273–289, 1995.

MARCUS, Y. Thermodynamics of solvation of ions. Part 5.—Gibbs free energy of hydration at 298.15 K. **Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions**, v. 87, n. 18, p. 2995–2999, 1991.

MARTÍNEZ-ARAGÓN, M.; BURGHOFF, S.; GOETHEER, E. L. V.; DE HAAN, A. B.

- Guidelines for solvent selection for carrier mediated extraction of proteins. **Separation and Purification Technology**, v. 65, n. 1, p. 65–72, 2009.
- MARTINS, M. A. R.; PINHO, S. P.; COUTINHO, J. A. P. Insights into the Nature of Eutectic and Deep Eutectic Mixtures. **Journal of Solution Chemistry**, p. 1–21, 2018.
- MERCHUK, J. C.; ANDREWS, B. A.; ASENJO, J. A. Aqueous two-phase systems for protein separation. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 711, n. 1–2, p. 285–293, 1998.
- MONDAL, D.; MAHTO, A.; VEERABABU, P.; BHATT, J.; PRASAD, K.; NATARAJ, S. K. Deep eutectic solvents as a new class of draw agent to enrich low abundance DNA and proteins using forward osmosis. **RSC Advances**, v. 5, n. 109, p. 89539–89544, 2015.
- MOORE, S.; STEIN, W. H. A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds. **The Journal of Biological chemistry**, v. 211, n. 2, p. 907–913, 1954.
- NELDER, J. A.; MEAD, R. A simplex method for function minimization. **Computer Journal**, v. 7, p. 308–313, 1964.
- NEVES, C. M. S. S.; SHAHRIARI, S.; LEMUS, J.; PEREIRA, J. F. B.; FREIRE, M. G.; COUTINHO, J. A. P. Aqueous biphasic systems composed of ionic liquids and polypropylene glycol: insights into their liquid-liquid demixing mechanisms. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 18, n. 30, p. 20571–20582, 2016.
- OKUNIEWSKI, M.; PADUSZYŃSKI, K.; DOMAŃSKA, U. Effect of Cation Structure in Trifluoromethanesulfonate-Based Ionic Liquids: Density, Viscosity, and Aqueous Biphasic Systems Involving Carbohydrates as “Salting-Out” Agents. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 61, n. 3, p. 1296–1304, 2016.
- PAIVA, A.; CRAVEIRO, R.; AROSO, I.; MARTINS, M.; REIS, R. L.; DUARTE, A. R. C. Natural deep eutectic solvents - Solvents for the 21st century. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 2, n. 5, p. 1063–1071, 2014.
- PANG, J.; SHA, X.; CHAO, Y.; CHEN, G.; HAN, C.; ZHU, W.; LI, H.; ZHANG, Q. Green aqueous biphasic systems containing deep eutectic solvents and sodium salts for the extraction of protein. **RSC Adv.**, v. 7, n. 78, p. 49361–49367, 2017.
- PASSOS, H.; COSTA, S. H.; FERNANDES, A. M.; FREIRE, M. G.; ROGERS, R. D.; COUTINHO, J. A. P. A triple salting-out effect is required for the formation of ionic-liquid-based aqueous multiphase systems. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 56, n. 47, p. 15058–15062, 2017.
- PASSOS, H.; FERREIRA, A. R.; CLÁUDIO, A. F. M.; COUTINHO, J. A. P.; FREIRE, M. G. Characterization of aqueous biphasic systems composed of ionic liquids and a citrate-based biodegradable salt. **Biochemical Engineering Journal**, v. 67, p. 68–76, 2012.
- PASSOS, H.; TAVARES, D. J. P.; FERREIRA, A. M.; FREIRE, M. G.; COUTINHO, J. A. P. Are aqueous biphasic systems composed of deep eutectic solvents ternary or quaternary systems? **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 4, n. 5, p. 2881–2886, 2016.
- PEREIRA, J. F. B.; LIMA, Á. S.; FREIRE, M. G.; COUTINHO, J. A. P. Ionic liquids as adjuvants for the tailored extraction of biomolecules in aqueous biphasic systems. **Green**

Chemistry, v. 12, n. 9, p. 1661, 2010.

QUENTAL, M. V.; CABAN, M.; PEREIRA, M. M.; STEPNOWSKI, P.; COUTINHO, J. A. P.; FREIRE, M. G. Enhanced extraction of proteins using cholinium-based ionic liquids as phase-forming components of aqueous biphasic systems. **Biotechnology Journal**, v. 10, n. 9, p. 1457–1466, 2015.

RADOŠEVIĆ, K.; CVJETKO BUBALO, M.; GAURINA SRČEK, V.; GRGAS, D.; LANDEKA DRAGIČEVIĆ, T.; RADOJČIĆ REDOVNIKOVIĆ, I. Evaluation of toxicity and biodegradability of choline chloride based deep eutectic solvents. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 112, p. 46–53, 2015.

REIS, I. A. O.; CAMPOS, A. F.; SANTOS, P. H. S.; SANTOS, S. B.; SOARES, C. M. F.; LIMA, Á. S. Potassium Phosphate Salts-Based Aqueous Two-Phase Systems Applied in the Extraction of Gallic Acid from Guava. **Separation Science and Technology**, v. 50, n. 4, p. 520–528, 2015.

RENON, H.; PRAUSNITZ, J. M. Local compositions in thermodynamics excess functions for liquids mixtures. **AIChE Journal**, v. 14, n. 1, p. 116–128, 1968.

ROGERS, R. D.; BOND, A. H.; BAUER, C. B.; ZHANG, J.; GRIFFIN, S. T. Metal ion separations in polyethylene glycol-based aqueous biphasic systems: correlation of partitioning behavior with available thermodynamic hydration data. **Journal of chromatography. B, Biomedical applications**, v. 680, n. 1–2, p. 221–9, 1996.

SAMPAIO, D. DE A.; SOSA, F. H. B. S.; MARTINS, A. D.; MAFRA, L. I.; YAMAMOTO, C. I.; DE SOUZA, M. O.; DE CASTILHOS, F.; MAFRA, M. R. Assessment of Sodium Salt Anions (SO₂-4 and NO-3) Influence on Caffeine Partitioning in Polyethylene Glycol and 1-Butyl-3-Methylimidazolium Tetrafluoroborate Based ATPS. **Journal of Solution Chemistry**, v. 45, p. 1857–1878, 2016.

SANDLER, S. I. **Chemical, Biochemical, and Engineering Thermodynamics**. 4. ed. Nova York: Willey, 2006.

SANGLARD, M. G.; FARIAS, F. O.; SOSA, F. H. B.; SANTOS, T. P. M.; IGARASHI-MAFRA, L.; MAFRA, M. R. Measurement and correlation of aqueous biphasic systems composed of alcohol (1-propanol/2-propanol/tert-butanol) þ (NH₄)₂SO₄ þ H₂O at 298 K and a textile dye partition Matheus. **Fluid Phase Equilibria**, v. 466, p. 7–13, 2018.

SÉ, R. A. G.; AZNAR, M. Thermodynamic modelling of phase equilibrium for water + poly(ethylene glycol) + salt aqueous two-phase systems. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 19, n. 2, p. 255–266, 2002.

SHAN, D.; WONG, H.; PEI, J.; MING, J.; HUANG, C. Phase equilibria of water and ionic liquids [emim][PF 6] and [bmim][PF 6]. **Fluid Phase Equilibria**, v. 197, p. 1089–1095, 2002.

SHUKLA, S. K.; PANDEY, S.; PANDEY, S. Applications of ionic liquids in biphasic separation: Aqueous biphasic systems and liquid–liquid equilibria. **Journal of Chromatography A**, v. 1559, p. 44–61, 20 jul. 2018.

SIMENTAL-MARTÍNEZ, J.; MONTALVO-HERNÁNDEZ, B.; RITO-PALOMARES, M.; BENAVIDES, J. Application of Aqueous Two-Phase Systems for the Recovery of Bioactive Low-Molecular Weight Compounds A. **Separation Science and Technology**, v. 49, p. 1872–1882, 2014.

- SMITH, E. L.; ABBOTT, A. P.; RYDER, K. S. Deep Eutectic Solvents (DESS) and Their Applications. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 21, p. 11060–11082, 2014.
- SMITH, J. M.; VAN NESS, H. C.; ABBOT, M. M. **Introduction to chemical engineering thermodynamics**. 7. ed. [s.l.] McGraw-Hill Companies, Inc., 2007.
- SOARES, B.; TAVARES, D. J. P.; AMARAL, J. L.; SILVESTRE, A. J. D.; FREIRE, C. S. R.; COUTINHO, J. A. P. Enhanced Solubility of Lignin Monomeric Model Compounds and Technical Lignins in Aqueous Solutions of Deep Eutectic Solvents. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 5, n. 5, p. 4056–4065, 2017.
- STRAGEVITCH, L.; DÁVILA, S. G. Application of a Generalized Maximum Likelihood method in the reducitob of multicomponent liquid-liquid equilibrium data. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 14, n. 1, 1997.
- SUN, D.; WANG, R.; LI, F.; LIU, L.; TAN, Z. Enantioselective Extraction of Phenylalanine Enantiomers Using Environmentally Friendly. **Processes**, v. 6, n. 212, p. 1–12, 2018.
- TADINI, C. C.; TELIS, V. R. N.; MEIRELLES, A. J. DE A.; PESSOA FILHO, P. DE A. **Operações Unitárias na Indústria de Alimentos**. 1. ed. [s.l.] LTC, 2016.
- TOMÉ, L. I. N.; BAIÃO, V.; DA SILVA, W.; BRETT, C. M. A. Deep eutectic solvents for the production and application of new materials. **Applied Materials Today**, v. 10, p. 30–50, 2018.
- TOMÉ, L. I. N.; CATAMBAS, V. R.; TELES, A. R. R.; FREIRE, M. G.; MARRUCHO, I. M.; COUTINHO, J. A. P. Tryptophan extraction using hydrophobic ionic liquids. **Separation and Purification Technology**, v. 72, n. 2, p. 167–173, 2010.
- VENTURA, S. P. M.; NEVES, C. M. S. S.; FREIRE, M. G.; MARRUCHO, I. M.; OLIVEIRA, J.; COUTINHO, J. A. P. Evaluation of cation influence on the formation and extraction capacity of ionic-liquid-based aqueous biphasic systems. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 113, n. 27, p. 9304–9310, 2009.
- WAGLE, D. V.; ZHAO, H.; BAKER, G. A. Deep eutectic solvents: sustainable media for nanoscale and functional materials. **Accounts of chemical research**, v. 47, n. 8, p. 2299–308, 2014.
- WANG, M.; WANG, J.; ZHOU, Y.; ZHANG, M.; XIA, Q.; BI, W.; DA, D.; CHEN, Y. Eco-friendly mechanochemical extraction of bioactive compounds from plants with deep eutectic solvents. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 5, n. 7, p. 6297–6303, 2017.
- WANG, T.; XU, W. J.; WANG, S. X.; KOU, P.; WANG, P.; WANG, X. Q.; FU, Y. J. Integrated and sustainable separation of chlorogenic acid from blueberry leaves by deep eutectic solvents coupled with aqueous two-phase system. **Food and Bioproducts Processing**, v. 105, p. 205–214, 2017.
- WANG, Y.; HAN, J.; LIU, J.; HU, Y.; SHENG, C.; WU, Y. Liquid-liquid equilibrium phase behavior of iminazolium-based ionic liquid aqueous two-phase systems composed of 1-alkyl-3-methyl imidazolium tetrafluoroborate and different electrolytes ZnSO₄, MgSO₄ and Li₂SO₄ at 298.15 K: Experimental and correlation. **Thermochimica Acta**, v. 557, p. 68–76, 2013.
- WANG, Y.; HAN, J.; XU, X.; HU, S.; YAN, Y. Partition behavior and partition

mechanism of antibiotics in ethanol/2-propanol-ammonium sulfate aqueous two-phase systems. **Separation and Purification Technology**, v. 75, n. 3, p. 352–357, 2010.

WANG, Y.; YAN, Y.; HU, S.; HAN, J.; XU, X. Phase diagrams of ammonium sulfate+ ethanol/1-propanol/2-propanol+ water aqueous two-phase systems at 298.15 K and correlation. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 55, n. 2, p. 876–881, 2009.

WILLAUER, H. D.; HUDDLESTON, J. G.; ROGERS, R. D. Solute Partitioning in Aqueous Biphasic Systems Composed of Polyethylene Glycol and Salt: The Partitioning of Small Neutral Organic Species. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 41, p. 1892–1904, 2002.

WILSON, G. M. Vapor-Liquid Equilibrium. XI. A New Expression for the Excess Free Energy of Mixing. **Journal of the American Chemical Society**, v. 86, n. 2, p. 127–130, 1964.

XU, K.; WANG, Y.; DING, X.; HUANG, Y.; LI, N.; WEN, Q. Magnetic solid-phase extraction of protein with deep eutectic solvent immobilized magnetic graphene oxide nanoparticles. **Talanta**, v. 148, p. 153–162, 2016.

XU, K.; WANG, Y.; HUANG, Y.; LI, N.; WEN, Q. A green deep eutectic solvent-based aqueous two-phase system for protein extracting. **Analytica Chimica Acta**, v. 864, p. 9–20, 2015.

XU, P.; WANG, Y.; CHEN, J.; WEI, X.; XU, W.; NI, R.; MENG, J.; ZHOU, Y. A novel aqueous biphasic system formed by deep eutectic solvent and ionic liquid for DNA partitioning. **Talanta**, v. 189, n. April, p. 467–479, 2018.

ZAFARANI-MOATTAR, M. T.; HAMIDI, A. A. Liquid-liquid equilibria of aqueous two-phase poly(ethylene glycol)-potassium citrate system. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 48, n. 2, p. 262–265, 2003.

ZAFARANI-MOATTAR, M. T.; HAMZEZHARDEH, S. Phase Diagrams for the Aqueous Two-Phase Ternary System Containing the Ionic Liquid 1-Butyl-3-methylimidazolium Bromide and Tri-potassium Citrate at T) (278 . 15 , 298 . 15 , and 318 . 15) K. **Journal of Chemical & Engineering data**, p. 833–841, 2009.

ZAFARANI-MOATTAR, M. T.; HAMZEZHARDEH, S. Effect of pH on the phase separation in the ternary aqueous system containing the hydrophilic ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium bromide and the kosmotropic salt potassium citrate at T = 298 . 15 K. **Fluid Phase Equilibria**, v. 304, n. 1–2, p. 110–120, 2011a.

ZAFARANI-MOATTAR, M. T.; HAMZEZHARDEH, S. Partitioning of amino acids in the aqueous biphasic system containing the water-miscible ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium bromide and the water-structuring salt potassium citrate. **Biotechnology Progress**, v. 27, n. 4, p. 986–997, 2011b.

ZASLAVSKY, B. Y. **Aqueous Two-Phase Partitioning: Physical Chemistry and Bioanalytical Applications**. New York: [s.n.].

ZENG, Q.; WANG, Y.; HUANG, Y.; DING, X.; CHEN, J.; XU, K. Deep eutectic solvents as novel extraction media for protein partitioning. **The Analyst**, v. 139, n. 10, p. 2565–73, 2014.

ZHANG, H.; WANG, Y.; XU, K.; LI, N.; WEN, Q.; YANG, Q.; ZHOU, Y.; WEN, I.; YANG, Q.; ZHOU, Y. Ternary and binary deep eutectic solvents as a Novel Extraction

Media for Protein Partitioning. **Analytical Methods**, p. 8196–8207, 2016.

ZHANG, H.; WANG, Y.; ZHOU, Y.; CHEN, J.; WEI, X.; XU, P. Aqueous biphasic systems formed by deep eutectic solvent and new-type salts for the high-performance extraction of pigments. **Talanta**, v. 181, n. October 2017, p. 210–216, 2018.

ZHANG, H.; WANG, Y.; ZHOU, Y.; XU, K.; LI, N.; WEN, Q.; YANG, Q. Aqueous biphasic systems containing PEG-based deep eutectic solvents for high-performance partitioning of RNA. **Talanta**, v. 170, n. April, p. 266–274, 2017.

ZHANG, Q.; DE OLIVEIRA VIGIER, K.; ROYER, S.; JÉRÔME, F. Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 21, p. 7108, 2012.

APÊNDICE A

TABELA A1. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA O SISTEMA $[N_{111(2OH)}]Cl + K_2HPO_4 + H_2O$ A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl$ (% m/m)	K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl$ (% m/m)
6,2	52,1	25,5	21,5
7,9	46,3	27,0	20,4
8,7	44,5	27,4	19,8
10,0	42,4	29,7	17,2
11,4	39,2	29,8	17,5
12,3	37,6	32,0	15,0
13,6	36,0	33,8	13,6
14,5	33,9	35,0	12,4
15,9	32,2	36,7	11,1
18,5	29,3	39,1	9,2
18,8	29,5	41,3	8,3
20,3	27,7	43,8	7,0
21,1	26,7	46,7	5,8
21,2	26,8	49,2	4,5
22,6	24,8	52,6	3,2
24,3	23,3	57,7	1,9
25,0	22,2		

^a As incertezas padrão (u) são $u(m) = 0,1 \%$, $u(T) = 0,5 \text{ °C}$ e $u(P) = 10 \text{ kPa}$.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A2. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA O SISTEMA $[N_{111(2OH)}]Cl$: FRUTOSE + $K_2HPO_4 + H_2O$ A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

1:2		1:1		2:1	
K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl$:frut (% m/m)	K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl$:frut (% m/m)	K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl$:frut (% m/m)
28,8	38,9	55,8	5,3	11,3	64,3
30,2	35,5	48,1	10,3	13,3	58,5
32,5	32,6	39,4	17,7	15,5	53,0
33,6	31,1	37,3	20,2	16,8	49,8
34,5	29,5	34,6	23,6	18,0	46,6
36,6	26,7	33,7	25,6	19,2	43,7
39,8	21,5	31,9	28,8	20,8	40,3
42,5	17,8	29,8	32,0	22,8	36,9
44,4	15,2	28,5	35,0	24,7	33,8
47,7	12,0	26,4	39,2	26,0	31,6
53,8	8,4	25,1	42,7	27,6	29,5
		23,9	45,1	29,0	27,0
		23,7	45,8	30,8	25,1
		19,8	55,3	32,7	23,2
				33,7	21,7
				36,0	19,5
				39,4	16,2
				40,4	15,2
				41,5	14,1
				42,9	12,5
				43,7	11,4
				45,1	10,4
				45,8	9,3
				48,7	7,6
				50,8	6,5
				55,0	5,3

^a As incertezas padrão (u) são $u(m) = 0,1 \%$, $u(T) = 0,5 \text{ °C}$ e $u(P) = 10 \text{ kPa}$.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A3. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA O SISTEMA $[N_{111(2OH)}]Cl$:
GLUCOSE + K_2HPO_4 + H_2O A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

1:2		1:1		2:1	
K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl:gluc$ (% m/m)	K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl:gluc$ (% m/m)	K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl:gluc$ (% m/m)
33,2	33,5	8,1	68,9	6,4	70,9
34,8	30,1	11,0	62,3	8,4	64,1
35,8	28,2	16,3	54,0	11,2	57,1
37,1	26,1	19,7	48,0	13,1	53,2
38,7	23,2	21,4	45,1	14,5	50,3
39,7	21,4	22,5	43,9	15,0	48,6
41,7	18,6	24,9	39,0	16,0	46,8
43,4	16,6	27,1	35,0	18,3	42,9
47,4	13,1	29,5	31,1	18,7	41,9
50,5	10,3	31,4	27,9	20,9	38,9
53,0	8,7	32,7	25,8	22,1	36,5
		34,4	23,2	22,8	35,4
		35,7	21,5	23,5	34,1
		37,8	18,8	25,1	32,0
		40,4	16,0	25,7	31,1
		40,5	15,8	25,9	30,4
		42,4	14,7	26,6	29,4
		44,7	12,1	27,6	27,9
		46,1	10,9	28,4	26,9
		48,1	9,3	28,9	26,0
		50,3	7,7	29,8	25,0
		53,2	5,8	30,9	23,5
		56,1	4,8	33,6	20,7
				35,8	18,2
				37,2	17,0
				39,2	15,1
				42,0	12,4
				43,4	11,2
				46,3	8,7
				47,7	7,8
				50,8	5,7
				53,4	4,5
				55,3	3,8
				57,4	3,3
				53,4	4,5
				55,3	3,8
				57,4	3,3

^a As incertezas padrão (u) são $u(m) = 0,1 \%$, $u(T) = 0,5 \text{ °C}$ e $u(P) = 10 \text{ kPa}$.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A4. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA O SISTEMA $[N_{111(2OH)}]Cl$:
SACAROSE + K_2HPO_4 + H_2O A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

1:2		1:1		2:1	
K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl:sac$ (% m/m)	K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl:sac$ (% m/m)	K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl:sac$ (% m/m)
30,0	37,9	22,9	43,4	6,1	74,0
30,8	35,2	23,4	41,5	7,8	67,5
32,0	32,6	24,2	39,6	10,1	61,4
33,1	31,0	26,2	36,2	11,0	58,4
35,1	28,0	26,7	34,8	12,6	54,3
36,4	26,1	28,8	31,5	15,0	49,3
36,9	25,2	30,5	28,8	17,8	44,8
37,3	24,4	31,4	27,0	18,6	42,7
38,2	23,4	32,7	25,0	20,4	39,4
39,2	21,7	33,5	23,7	22,6	35,9
40,0	20,9	34,9	21,6	23,5	34,6
41,0	19,6	35,3	20,7	24,1	33,2
42,9	17,6	36,3	19,6	26,2	30,5
44,2	16,3	36,7	18,5	26,9	29,2
46,8	13,5	38,1	17,3	28,9	26,6
47,7	12,8	39,7	15,0	30,3	24,6
52,0	10,0	44,2	12,7	33,6	20,6
		46,7	10,7	35,5	18,5
		50,7	7,7	39,1	15,4
		53,4	6,1	40,2	14,2
		56,5	4,3	42,2	12,1
				48,0	7,0
				54,1	4,3
				58,2	2,3

^a As incertezas padrão (u) são $u(m) = 0,1 \%$, $u(T) = 0,5 \text{ °C}$ e $u(P) = 10 \text{ kPa}$.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A5. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA O SISTEMA $[N_{111(2OH)}]Cl$: Glucose + PPG 400+ H_2O A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

2:1		1:1		1:2	
$[N_{111(2OH)}]Cl:glu$ (% m/m)	PPG 400 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl:glu$ (% m/m)	PPG 400 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl:gluc$ (% m/m)	PPG 400 (% m/m)
0,5	78,5	0,6	78,8	1,1	77,1
1,4	74,9	1,4	74,8	3,2	66,8
2,3	68,5	2,3	68,5	4,4	60,4
2,9	65,0	2,9	65,1	5,3	56,2
3,6	61,8	3,6	61,9	6,3	52,6
4,8	56,4	4,7	56,9	8,2	47,2
5,2	54,3	5,2	54,3	9,0	43,5
6,1	50,1	6,0	50,0	9,7	41,1
6,4	48,0	6,9	44,8	10,5	38,5
6,9	44,8	7,6	42,4	11,9	33,5
7,5	42,4	8,3	38,6	13,1	28,9
7,8	40,4	10,6	32,3	13,9	27,0
8,3	38,6	12,1	29,9	14,6	25,5
8,9	36,2	13,2	27,6	15,5	23,9
9,3	34,0	14,8	24,2	16,6	21,9
10,2	30,8	16,3	21,6	17,6	20,5
11,0	29,1	18,1	18,5	18,8	18,8
12,9	25,5	19,9	15,7	19,8	17,3
13,6	23,6	20,9	15,1	20,1	16,5
16,8	17,8	22,9	13,4	21,6	15,2
19,9	12,1	25,1	13,0	23,4	13,7
23,1	10,8	26,6	11,9	32,4	8,7
25,6	9,7	30,3	10,0	40,0	5,3
26,6	9,2	33,8	8,4	48,6	2,3
29,4	8,5	39,7	7,1		
32,7	7,2	48,0	3,1		

^a As incertezas padrão (u) são $u(m) = 0,1 \%$, $u(T) = 0,5 \text{ °C}$ e $u(P) = 10 \text{ kPa}$.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A6. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA OS SISTEMAS: $[N_{111(2OH)}]Cl$ + PPG 400+ H_2O E GLUCOSE + PPG 400 + H_2O A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

$[N_{111(2OH)}]Cl$ (% m/m)	PPG 400 (% m/m)	Glucose (% m/m)	PPG 400 (% m/m)
7,5	39,1	3,9	60,2
8,1	36,3	6,9	51,6
8,4	33,6	7,7	49,2
8,9	31,3	8,8	43,8
9,2	29,6	10,6	35,6
10,6	26,2	13,6	27,8
11,2	25,5	16,4	20,8
11,6	24,2		
12,0	23,6		
14,1	20,5		
14,3	19,3		
14,6	18,9		
14,9	18,0		
15,2	17,2		
16,0	16,8		
16,7	16,5		
17,5	16,0		

^a As incertezas padrão (u) são $u(m) = 0,1 \%$, $u(T) = 0,5 \text{ °C}$ e $u(P) = 10 \text{ kPa}$.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A7. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA OS SISTEMAS: $[N_{111}(2OH)]Cl$:
ETANOL + K_2HPO_4 + H_2O A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

2:1		1:1		1:2	
K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111}(2OH)]Cl$: OH (% m/m)	K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111}(2OH)]Cl$: OH (% m/m)	K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111}(2OH)]Cl$: OH (% m/m)
58,29	2,44	58,22	2,14	50,13	1,70
53,83	3,23	55,03	2,59	46,64	2,36
45,37	5,37	51,31	3,68	43,84	2,95
43,39	6,16	49,18	4,39	42,83	3,45
39,63	8,54	46,08	5,27	41,31	4,01
37,40	10,31	44,49	6,13	40,34	4,41
34,12	12,90	42,87	6,92	38,75	5,31
31,65	15,12	40,50	8,54	37,33	6,16
29,23	17,13	38,68	9,56	36,15	6,84
29,01	17,34	36,88	10,22	34,46	8,20
28,15	18,01	35,37	11,41	32,86	9,52
26,12	20,01	34,42	12,21	31,97	10,10
22,68	23,69	33,58	12,96	29,22	12,22
21,84	24,32	31,99	14,28	28,06	13,26
17,82	28,85	30,04	16,01	27,10	14,13
15,21	31,53	27,61	18,23	25,49	15,96
13,60	33,79	25,25	20,26	24,65	16,61
11,99	36,34	24,05	21,40	23,16	17,96
11,00	37,96	22,32	23,13	21,97	19,18
8,89	46,10	19,95	25,60	20,46	20,71
7,64	48,82	17,89	27,96	19,88	21,22
6,43	53,39	15,63	30,53	18,36	22,92
5,23	57,06	13,38	33,20	17,05	23,83
		10,60	36,80	16,89	24,59
		8,21	41,98	16,06	25,73
		7,47	44,79	14,14	27,51
		6,39	48,07	12,98	29,75
		5,16	53,33	10,31	33,29
				9,08	36,28
				8,15	38,41
				7,44	40,68
				6,12	42,77
				4,82	47,85
				3,91	50,90
				3,05	56,94

^a As incertezas padrão (u) são $u(m) = 0,1 \%$, $u(T) = 0,5 \text{ } ^\circ\text{C}$ e $u(P) = 10 \text{ kPa}$.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A8. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA OS SISTEMAS: $[N_{111(2OH)}]Cl$: *n*-PROPANOL + K_2HPO_4 + H_2O A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

2:1		1:1		1:2	
K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl$: OH (% m/m)	K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl$: OH (% m/m)	K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl$: OH (% m/m)
58,83	0,64	58,19	1,15	58,36	1,31
47,44	1,07	42,36	2,06	40,64	1,61
41,94	1,72	39,33	2,56	37,06	2,01
40,20	2,45	35,48	3,43	34,32	2,95
38,04	3,32	32,85	4,84	32,28	3,71
35,63	4,62	30,79	5,82	28,69	5,57
31,08	7,89	28,42	6,66	25,13	7,71
28,89	10,82	27,27	7,51	22,23	8,65
27,34	12,71	24,61	10,20	18,83	10,53
26,41	14,05	23,22	11,53	16,76	11,80
25,24	15,44	22,08	12,84	15,98	12,65
24,52	16,87	20,02	15,39	13,86	15,35
24,14	17,47	18,63	16,62	12,90	16,78
23,59	18,57	17,95	17,62	11,94	18,30
22,63	19,96	17,09	18,85	11,39	19,22
21,63	21,70	16,23	19,91	10,67	20,02
20,32	23,55	14,70	22,01	9,64	21,98
19,12	25,49	13,22	24,04	9,05	23,64
18,26	27,07	10,13	29,53	8,52	25,50
16,30	30,40	8,78	32,22	8,00	26,87
18,31	27,27	7,04	35,95	7,23	29,06
12,34	37,10	5,62	39,64	6,51	30,14
7,98	45,04	2,67	45,37	5,59	31,75
5,99	48,31			5,07	32,90
				4,13	34,77
				3,78	35,97
				2,98	37,46
				2,75	38,63
				2,32	40,27
				2,03	42,32
				1,51	44,07
				1,07	45,66

^a As incertezas padrão (u) são $u(m) = 0,1 \%$, $u(T) = 0,5 \text{ °C}$ e $u(P) = 10 \text{ kPa}$.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A9. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA OS SISTEMAS: [N_{111(2OH)}]Cl: 1,2-PROPANODIOL + K₂HPO₄ + H₂O A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

2:1		1:1		1:2	
K ₂ HPO ₄ (% m/m)	[N _{111(2OH)}]Cl: OH (% m/m)	K ₂ HPO ₄ (% m/m)	K ₂ HPO ₄ (% m/m)	[N _{111(2OH)}]Cl: OH (% m/m)	K ₂ HPO ₄ (% m/m)
60,79	1,18	60,70	1,20	57,29	4,83
56,94	1,49	56,40	2,60	52,63	6,63
52,26	3,84	53,18	3,76	49,38	7,89
49,59	4,61	50,04	4,57	43,59	10,19
46,21	6,26	46,42	6,42	39,57	11,61
45,57	7,32	44,94	7,66	36,85	13,72
43,08	7,71	42,73	8,93	34,45	15,66
41,46	9,03	41,26	10,39	30,70	19,56
39,62	10,14	39,31	11,71	29,60	20,42
38,95	10,90	36,62	13,37	27,47	22,69
37,20	12,14	33,69	16,11	26,53	23,98
35,26	13,88	30,75	17,36	24,88	26,59
34,58	14,47	28,06	20,02	21,87	29,19
31,86	17,14	23,70	26,54	18,40	34,17
29,95	18,89	19,96	30,67	16,88	36,87
29,16	19,84	17,90	34,44	15,13	40,11
27,52	21,83	16,85	36,61	11,92	47,58
27,45	22,25	14,52	39,99	10,21	52,06
25,59	24,02	12,81	43,09	8,23	60,06
23,54	25,76	10,81	46,18		
21,11	28,95	9,38	49,70		
20,14	30,14	7,36	55,65		
18,38	31,78	6,68	57,55		
16,98	33,73	5,79	60,06		
15,45	36,20	5,47	61,75		
14,22	38,71				
12,77	41,91				
12,27	42,17				
11,64	44,37				
10,26	47,41				
7,39	54,38				
4,84	61,34				

^a As incertezas padrão (u) são u(m) = 0,1 %, u(T) = 0,5 °C e u(P) = 10 kPa.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A10. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA OS SISTEMAS: $[N_{111}(2OH)]Cl$:
ETILENO GLICOL + K_2HPO_4 + H_2O A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

2:1		1:1		1:2	
K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111}(2OH)]Cl$: OH (% m/m)	K_2HPO_4 (% m/m)	K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111}(2OH)]Cl$: OH (% m/m)	K_2HPO_4 (% m/m)
60,29	1,71	59,14	1,81	57,09	3,60
54,28	3,61	54,53	3,08	52,60	4,86
50,64	5,05	49,10	5,71	50,14	5,88
47,58	6,31	44,21	9,43	48,14	7,30
44,80	7,62	41,34	13,17	44,19	10,87
40,89	10,68	37,51	16,21	41,82	15,02
38,28	12,30	36,30	17,50	40,47	16,73
37,72	12,90	34,61	19,52	38,98	18,72
36,91	13,71	33,82	20,48	36,17	22,80
36,00	14,62	32,19	22,34	31,93	29,18
35,26	15,48	30,91	23,99	29,49	33,52
34,36	16,44	29,12	26,15	24,76	41,00
33,46	17,49	27,63	28,96	22,37	47,01
31,80	19,13	26,38	29,91		
30,97	20,17	24,75	32,27		
29,33	21,97	22,48	35,18		
28,52	23,08	22,13	35,99		
27,80	23,73	19,04	40,49		
26,11	25,73	17,27	43,80		
23,74	28,33	16,08	45,29		
21,26	31,25				
19,20	33,94				
17,14	37,00				
15,45	39,87				
13,71	43,05				
10,66	47,62				
9,30	53,04				

^a As incertezas padrão (u) são $u(m) = 0,1 \%$, $u(T) = 0,5 \text{ °C}$ e $u(P) = 10 \text{ kPa}$.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A11. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA OS SISTEMAS: $[N_{111(2OH)}]Cl$: OH + K_2HPO_4 + H_2O A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

Etanol		<i>n</i> -Propanol		1,2-propanodiol	
K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl$: OH (% m/m)	K_2HPO_4 (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl$: OH (% m/m)	$[K_2HPO_4]$ (% m/m)	$[N_{111(2OH)}]Cl$: OH (% m/m)
58,94	2,19	58,52	1,20	58,28	2,47
45,79	3,08	39,01	1,41	55,00	3,04
40,61	4,02	36,80	1,09	51,28	4,08
37,20	4,88	33,58	1,48	41,64	12,66
35,15	5,70	30,84	1,95	39,72	13,53
33,63	6,44	28,13	2,59	37,89	15,69
31,95	6,95	26,45	3,31	37,51	16,99
30,43	7,49	22,59	4,03	34,18	20,09
27,75	8,32	20,47	4,50	32,02	23,05
25,93	8,88	18,96	5,13	26,70	29,45
24,46	9,37	17,78	5,60	24,51	32,59
21,61	10,82	15,70	6,64	23,66	33,79
20,56	11,60	13,88	7,77	22,09	36,56
19,50	12,45	11,91	9,55	20,11	40,16
18,54	13,29	10,22	11,12	16,64	46,51
17,80	13,98	9,26	12,43		
17,16	14,66	8,23	14,28		
16,53	15,40	7,45	16,08		
15,81	16,27	6,93	17,13		
14,95	17,09	6,50	18,59		
13,87	18,14	6,25	19,59		
13,42	18,97	5,80	21,67		
12,87	19,55	5,44	23,16		
12,25	20,24	5,09	25,12		
11,51	21,35	4,58	27,57		
10,16	22,80	3,99	29,64		
10,10	23,53	3,63	33,29		
9,06	24,82	2,91	37,01		
8,43	25,75	2,70	39,13		
7,49	27,48	2,38	40,81		
7,06	28,85	1,98	43,29		
6,60	29,72	1,72	45,24		
5,43	31,94	1,31	48,86		
4,83	34,29				
4,22	36,66				
3,39	39,38				
2,72	43,07				

^a As incertezas padrão (u) são $u(m) = 0,1 \%$, $u(T) = 0,5 \text{ °C}$ e $u(P) = 10 \text{ kPa}$.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A12. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA OS SISTEMAS: $[N_{4444}]Cl + C_6H_5K_3O_7 + H_2O$ A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

pH 5		pH 7		pH 9	
$C_6H_5K_3O$	$[N_{4444}]Cl$	$C_6H_5K_3O$	$[N_{4444}]Cl$	$C_6H_5K_3O$	$[N_{4444}]Cl$
4,50	54,48	5,45	47,02	3,08	53,89
5,08	51,33	6,27	43,50	4,50	49,98
8,09	45,63	7,44	39,98	6,48	42,88
10,95	40,26	8,67	37,43	7,53	40,32
13,46	36,30	10,84	33,06	9,31	36,04
15,32	32,67	12,08	30,91	12,15	31,22
17,05	30,13	13,91	27,79	13,51	29,08
20,36	26,01	16,36	24,29	16,04	25,44
23,39	22,43	17,33	23,04	17,70	23,42
26,43	18,96	18,52	21,36	18,82	21,83
30,57	15,66	19,75	19,99	21,47	18,79
32,63	13,12	20,75	18,62	22,63	17,49
32,65	13,51	21,43	17,82	23,65	16,32
34,58	11,58	22,65	16,41	24,72	15,26
36,72	9,60	23,46	15,48	26,74	13,16
39,08	7,45	24,48	14,29	27,54	12,35
		25,50	12,76	28,19	11,70
		26,40	11,93	29,16	10,81
		27,33	11,06	29,98	10,07
		28,76	9,60	31,23	8,99
		30,04	8,42	32,00	8,36
		30,82	7,71		
		32,20	7,12		
		34,25	6,43		

^a As incertezas padrão (u) são $u(m) = 0,1 \%$, $u(T) = 0,5 \text{ °C}$ e $u(P) = 10 \text{ kPa}$.
Fonte: A Autora (2018)

TABELA A13. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA OS SISTEMAS: ETANOL + $C_6H_5K_3O_7 + H_2O$ A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

pH 5		pH 7		pH 9	
$C_6H_5K_3O$	Etanol	$C_6H_5K_3O$	Etanol	$C_6H_5K_3O$	Etanol
42,45	11,75	46,64	6,56	1,36	63,43
33,69	17,19	40,66	8,82	2,36	55,32
27,61	22,85	35,16	11,47	3,23	51,84
25,30	24,62	28,37	16,08	4,18	49,47
21,51	28,35	25,26	19,10	6,15	44,73
19,36	30,77	21,65	23,82	7,48	41,55
17,59	32,60	20,82	24,77	8,74	39,52
15,40	35,18	19,77	25,86	11,62	34,80
14,27	36,24	19,19	26,64	12,91	32,78
12,87	38,13	17,99	28,18	14,36	30,83
11,72	40,12	17,27	29,49	15,65	28,99
10,84	41,10	14,81	31,99	16,79	27,41
10,73	41,48	12,73	34,73	17,71	26,10
9,84	42,87	11,67	35,71	19,74	23,49
9,27	43,42	10,69	37,63	20,50	22,49
8,57	44,43	10,13	38,22	21,42	21,34
8,17	45,31	9,13	40,68	22,21	20,33
		8,91	40,82	23,89	18,32
		8,44	41,85	24,74	17,35
		7,45	43,65	25,73	16,29
		7,27	44,04	26,61	15,25
		6,40	45,55	27,57	14,24
		5,96	46,63	28,87	13,13

^a As incertezas padrão (u) são $u(m) = 0,1 \%$, $u(T) = 0,5 \text{ °C}$ e $u(P) = 10 \text{ kPa}$.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A14. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA OS SISTEMAS: *n*-PROPANOL + $C_6H_5K_3O_7 + H_2O$ A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

pH 5		pH 7		pH 9	
$C_6H_5K_3O$	Propanol	$C_6H_5K_3O$	Propanol	$C_6H_5K_3O$	Propanol
46,43	3,48	47,64	4,55	26,21	5,28
38,45	5,35	36,94	6,02	20,27	7,23
33,70	6,86	25,69	7,17	18,68	7,84
28,94	8,26	22,25	9,07	17,60	8,62
25,07	11,11	20,73	9,66	16,61	9,18
22,24	13,03	15,76	11,56	15,75	9,63
19,79	15,55	13,11	14,10	15,25	10,04
18,32	18,53	11,65	16,03	14,26	11,12
17,08	21,29	11,00	16,78	12,79	12,49
16,41	23,03	10,04	18,31	12,48	13,26
15,10	26,20	9,11	19,83	11,51	14,07
13,90	29,24	8,86	20,40	11,31	15,18
12,55	32,64	8,25	21,46	10,32	16,23
11,58	34,72	7,85	22,66	10,12	16,99
10,81	37,13	7,47	23,82	9,35	18,56
9,34	41,92	7,01	25,13	8,58	19,83
8,94	42,91	6,68	26,33	8,15	21,62
8,10	44,95	6,25	28,16	7,49	23,11
		6,13	28,52	7,13	24,87
		5,80	30,07	6,83	26,59
		5,50	31,16	5,81	30,00
		5,25	32,35	5,57	33,17
		4,32	34,80	4,20	39,41
		3,72	37,96	3,26	46,77
		3,22	41,00	2,20	52,70
				1,18	58,29

^a As incertezas padrão (u) são $u(m) = 0,1 \%$, $u(T) = 0,5 \text{ °C}$ e $u(P) = 10 \text{ kPa}$.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A15. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA OS SISTEMAS: [N₄₄₄₄]Cl:
ETANOL (2:1) + C₆H₅K₃O₇ + H₂O A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

pH 5		pH 7		pH 9	
C ₆ H ₅ K ₃ O	[N ₄₄₄₄]Cl: OH	C ₆ H ₅ K ₃ O	[N ₄₄₄₄]Cl: OH	C ₆ H ₅ K ₃ O	[N ₄₄₄₄]Cl: OH
9,77	46,90	6,22	49,91	4,83	46,23
11,10	41,58	7,74	43,59	5,52	42,69
14,78	34,43	11,46	35,23	9,22	36,44
18,70	28,20	12,84	32,15	9,91	34,77
24,21	21,25	18,01	24,02	11,82	31,65
29,50	15,51	20,48	21,00	13,04	29,88
		22,53	18,13	14,06	28,35
		24,51	16,07	15,80	25,58
		25,69	14,51	17,05	24,00
		25,91	14,12	18,14	22,59
		27,42	12,59	19,31	21,09
		28,88	11,04	20,58	19,65
		30,62	9,66	21,37	18,59
		31,15	9,11	23,24	16,49
				23,71	15,91
				24,45	15,06
				25,09	14,34
				25,71	13,67
				26,45	12,97
				27,66	11,74

^a As incertezas padrão (u) são u(m) = 0,1 %, u(T) = 0,5 °C e u(P) = 10 kPa.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A16. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA OS SISTEMAS: [N₄₄₄₄]Cl:
ETANOL (1:1) + C₆H₅K₃O₇ + H₂O A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

pH 5		pH 7		pH 9	
C ₆ H ₅ K ₃ O	[N ₄₄₄₄]Cl: OH	C ₆ H ₅ K ₃ O	[N ₄₄₄₄]Cl: OH	C ₆ H ₅ K ₃ O	[N ₄₄₄₄]Cl: OH
6,84	50,49	4,57	49,45	3,39	51,91
10,87	41,97	7,45	42,97	4,73	46,12
14,12	35,90	9,74	35,66	5,97	42,41
19,10	28,83	11,36	31,92	7,88	38,33
26,63	20,11	13,33	28,72	11,57	32,86
36,02	10,69	15,77	25,64	12,32	31,50
6,84	50,49	17,56	22,84	14,03	28,37
		20,77	18,98	16,17	25,60
		23,53	15,86	20,18	20,33
		24,97	14,41	22,21	18,37
		26,04	13,14	23,00	17,46
		27,79	11,23	24,16	16,27
		28,77	10,10	24,90	15,45
		29,75	9,30	25,57	14,65
		30,26	8,77	26,03	14,05

^a As incertezas padrão (u) são u(m) = 0,1 %, u(T) = 0,5 °C e u(P) = 10 kPa.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A17. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA OS SISTEMAS: [N₄₄₄₄]Cl:
ETANOL (1:2) + C₆H₅K₃O₇ + H₂O A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

pH 5		pH 7		pH 9	
C ₆ H ₅ K ₃ O	[N ₄₄₄₄]Cl: OH	C ₆ H ₅ K ₃ O	[N ₄₄₄₄]Cl: OH	C ₆ H ₅ K ₃ O	[N ₄₄₄₄]Cl: OH
8,20	48,87	2,37	56,36	4,46	47,96
12,31	40,46	5,41	47,44	5,66	45,08
21,08	28,30	10,06	36,90	7,98	41,28
25,97	22,50	14,35	29,92	8,64	38,07
31,94	15,92	17,33	26,05	9,56	36,18
8,20	48,87	20,17	22,53	12,59	31,27
12,31	40,46	21,42	20,62	13,88	29,28
21,08	28,30	22,57	19,01	16,51	25,61
		23,92	17,22	17,32	24,27
		25,56	15,07	19,62	21,52
		26,50	14,03	21,56	19,06
		27,24	13,41	22,61	17,86
		27,98	12,50	24,01	16,23
		29,31	11,28	25,39	14,71
		30,06	10,67	26,68	13,32
		30,85	9,88	27,31	12,67
				27,96	11,99
				29,18	10,85
				29,97	10,12
				31,05	9,19
				32,45	8,09

^a As incertezas padrão (u) são u(m) = 0,1 %, u(T) = 0,5 °C e u(P) = 10 kPa.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A18. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA OS SISTEMAS: $[N_{4444}]Cl$: *n*-PROPANOL (2:1) + $C_6H_5K_3O_7$ + H_2O A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

pH 5		pH 7		pH 9	
$C_6H_5K_3O$	$[N_{4444}]Cl$: OH	$C_6H_5K_3O$	$[N_{4444}]Cl$: OH	$C_6H_5K_3O$	$[N_{4444}]Cl$: OH
5,97	52,18	3,54	54,93	4,42	48,99
11,24	42,05	6,75	47,36	5,75	44,76
12,37	39,15	9,27	40,32	7,30	40,53
16,07	33,02	13,62	30,89	8,87	38,03
22,54	24,68	16,16	26,06	9,78	35,57
25,69	20,80	17,08	24,58	11,72	32,00
29,09	16,75	20,59	20,12	13,32	29,58
33,25	12,42	21,16	19,41	14,31	28,15
		23,49	16,15	15,98	25,56
		24,11	15,11	23,34	16,90
		26,09	12,88	24,60	15,14
		26,89	11,94	25,65	13,75
		27,60	11,18	25,92	13,21
		28,62	10,33	26,49	12,53
		29,12	9,61	27,24	11,79
		29,81	9,00	28,74	10,61
			26,62	29,06	9,99
				29,92	9,31
				31,28	8,36
				32,63	7,31
				32,90	6,88
				34,33	6,06

^a As incertezas padrão (u) são $u(m) = 0,1 \%$, $u(T) = 0,5 \text{ } ^\circ\text{C}$ e $u(P) = 10 \text{ kPa}$.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A19. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA OS SISTEMAS: $[N_{4444}]Cl$: *n*-PROPANOL (1:1) + $C_6H_5K_3O_7$ + H_2O A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

pH 5		pH 7		pH 9	
$C_6H_5K_3O$	$[N_{4444}]Cl$: OH	$C_6H_5K_3O$	$[N_{4444}]Cl$: OH	$C_6H_5K_3O$	$[N_{4444}]Cl$: OH
5,59	53,09	3,36	53,96	5,66	45,21
8,90	45,18	6,19	45,11	7,85	40,02
12,33	38,32	8,75	39,87	9,60	36,14
14,13	34,76	10,35	34,07	11,91	31,51
17,59	29,17	14,52	27,65	13,00	28,82
20,45	25,38	15,46	25,60	14,56	25,63
21,06	22,78	17,29	22,89	16,72	23,08
24,40	18,89	18,41	21,04	19,38	19,69
26,94	15,84	19,95	18,71	21,20	17,17
30,35	12,73	21,08	17,15	23,38	14,73
5,59	53,09	21,96	15,99	24,67	12,66
8,90	45,18	23,14	14,70	26,02	11,31
12,33	38,32	23,84	13,80	26,94	10,40
14,13	34,76	24,08	13,28	27,62	9,76
		25,08	12,27	29,65	8,07
		25,77	11,76	30,06	7,70
		26,62	10,70	30,71	7,21
		27,62	9,66	31,19	6,83
				32,47	6,00
				34,11	5,06
				34,44	4,80

^a As incertezas padrão (u) são $u(m) = 0,1 \%$, $u(T) = 0,5 \text{ } ^\circ\text{C}$ e $u(P) = 10 \text{ kPa}$.

Fonte: A Autora (2018)

TABELA A20. DADOS EXPERIMENTAIS DE BINODAL PARA OS SISTEMAS: [N₄₄₄₄]Cl: *n*-PROPANOL (1:2) + C₆H₅K₃O₇ + H₂O A 25 °C E PRESSÃO ATMOSFÉRICA. ^a

pH 5		pH 7		pH 9	
C ₆ H ₅ K ₃ O	[N ₄₄₄₄]Cl: OH	C ₆ H ₅ K ₃ O	[N ₄₄₄₄]Cl: OH	C ₆ H ₅ K ₃ O	[N ₄₄₄₄]Cl: OH
6,33	52,21	3,22	54,08	26,80	9,47
8,45	45,80	6,38	44,43	25,1	10,7
11,41	38,95	7,32	38,53	23,4	12,1
13,63	34,33	10,77	32,02	22,4	13,1
16,79	29,22	13,20	26,86	22,0	13,6
19,53	24,84	14,14	25,00	21,6	14,2
21,47	21,94	16,02	22,55	20,6	15,4
23,03	19,78	18,16	19,09	20,4	15,8
25,04	17,32	18,56	18,03	19,6	16,6
26,15	15,81	19,51	16,83	18,4	18,5
28,26	13,71	20,31	15,75	17,8	19,7
28,83	13,07	21,18	14,73	16,64	21,97
29,57	12,14	22,21	13,40	14,94	24,66
30,39	11,40	22,99	12,64	13,6	26,0
32,47	9,50	23,63	12,01	13,0	27,2
6,33	52,21	24,06	11,40	11,39	30,03
8,45	45,80	24,53	10,65	9,3	33,1
		25,71	9,57	7,88	37,21
				6,7	39,6
				5,7	44,5
				4,1	54,4

^a As incertezas padrão (u) são u(m) = 0,1 %, u(T) = 0,5 °C e u(P) = 10 kPa.

Fonte: A Autora (2018)

APÊNDICE B

TABELA B1 - MEDIDAS DE PH DOS DIFERENTES SDFA

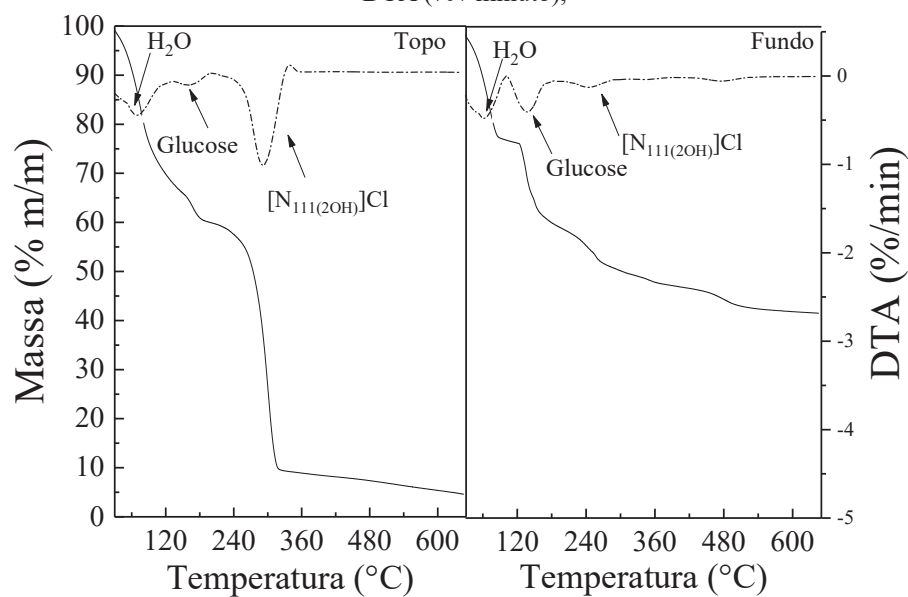
Sistema	LA	pH _{topo}	pH _{fundo}	Sistema	LA	pH _{topo}	pH _{fundo}
Capítulo 4							
[N ₁₁₁ (2OH)]Cl + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	1	10,4	10,6	[N ₁₁₁ (2OH)]Cl: Frutose + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	1	10,5	10,6
	2	10,5	10,7		2	10,3	10,5
	3	10,6	10,7		3	10,4	10,5
	4	10,8	10,8		4	10,4	10,6
	5	10,8	10,8		5	10,3	10,6
	6	10,9	11,0		6	10,5	10,6
[N ₁₁₁ (2OH)]Cl: Glucose + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	1	10,4	10,5	[N ₁₁₁ (2OH)]Cl: Sacarose + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O	1	10,6	10,6
	2	10,3	10,4		2	10,4	10,5
	3	10,3	10,5		3	10,6	10,6
	4	10,4	10,5		4	10,5	10,7
	5	10,5	10,5		5	10,6	10,7
	6	10,5	10,6		6	10,6	10,8
Capítulo 5				Capítulo 6			
[N ₁₁₁ (2OH)]Cl: Glucose (2:1)	1	7,10	7,82	[N ₁₁₁ (2OH)]Cl	0	10,3	10,4
	3	6,80	6,94	[N ₁₁₁ (2OH)]Cl: etanol	0,33	10,3	10,5
	5	6,88	7,03		0,50	10,1	10,3
[N ₁₁₁ (2OH)]Cl: Glucose (2:1)	1	6,88	7,51		0,67	10,2	10,4
	3	7,14	6,61	Etanol	1	9,9	10,0
	5	7,10	6,92	[N ₁₁₁ (2OH)]Cl: propanol	0,50	9,1	10,1
[N ₁₁₁ (2OH)]Cl: Glucose (2:1)	1	7,43	7,23		0,67	9,0	10,0
	3	6,70	6,88	Propanol	1	9,8	9,9
	5	6,67	6,82	[N ₁₁₁ (2OH)]Cl	0	10,5	10,6
				[N ₁₁₁ (2OH)]Cl: 1,2-propanodiol	0,33	10,6	10,5
					0,50	10,5	10,6
					0,67	10,5	10,5
				1,2-propanodiol	1	10,6	10,6
				[N ₁₁₁ (2OH)]Cl: etileno glicol	0,33	10,5	10,5
					0,50	10,5	10,6

^a A Incerteza Padrão (u) são u(pH) = 0,01

Fonte: A Autora (2018)

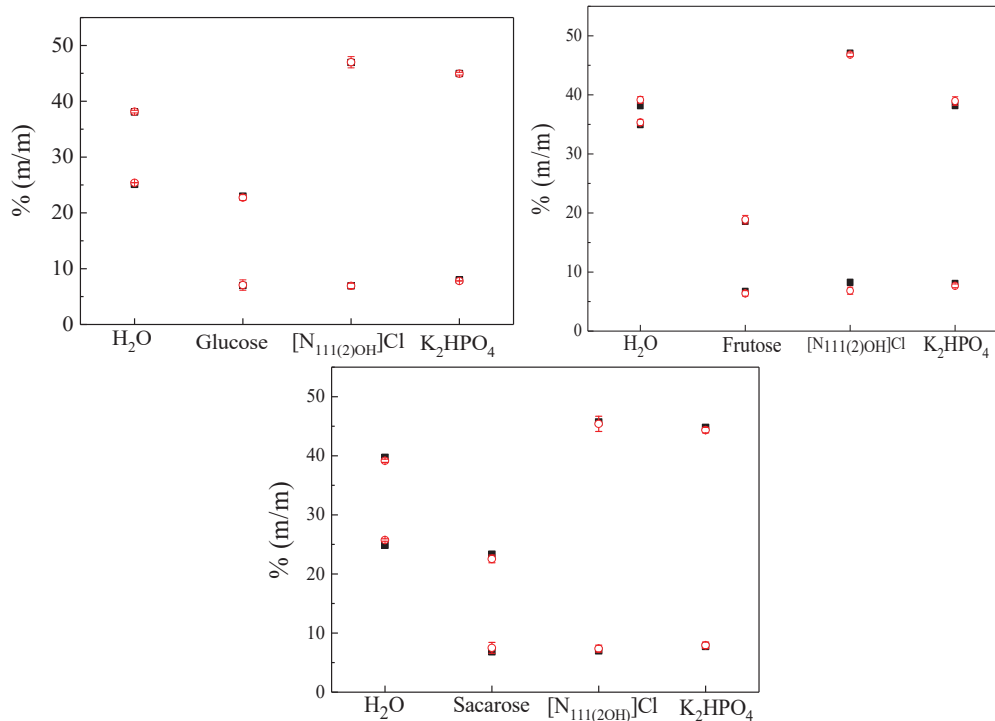
APÊNDICE C

FIGURA C1 - EXEMPLO DE GRÁFICO DE TGA PARA A QUANTIFICAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DAS FASES DO SDFA: $[N_{111(2OH)}]Cl$: GLUCOSE + K_2HPO_4 + H_2O , (-) Perda de massa (% m/m) e (---) DTA (% / minuto),



Fonte: A Autora (2018)

FIGURA C2 – COMPARAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO REAL DA AMOSTRA (■) E OS VALORES OBTIDOS POR TGA (○) COM DESVIO PADRÃO



Fonte: A Autora (2018)

APÊNDICE D

TABELA D1 – RAZÃO MOLAR ENTRE RECEPTOR (RH) E DOADOR DE HIDROGÊNIO (DH) NAS FASES DOS SISTEMAS: $[N_{111(2OH)}]Cl$ + GLUCOSE/ FRUTOSE/SACAROSE + K_2HPO_4 + H_2O

Razão Molar RH: DH DES	Composição Global (% m/m)		RH: DH Razão molar		CLA
	DES	K ₂ HPO ₄	Fase rica em [N _{111(2OH)}]Cl	Fase rica em K ₂ HPO ₄	
[N _{111(2OH)}]Cl + Glucose + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O					
2,5: 1	28,6	28,6	6,9	1,2	37,2
	29,3	29,3	9,0	0,9	43,6
	29,9	30,0	9,7	0,5	52,3
	30,5	30,6	10,6	0,6	55,6
	31,2	31,2	11,0	0,6	57,2
	31,7	31,7	12,2	0,6	60,2
[N _{111(2OH)}]Cl + Frutose + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O					
2,5: 1	28,6	28,5	5,4	1,6	26,9
	29,3	29,2	6,8	1,1	38,5
	29,9	29,9	8,8	0,9	44,9
	30,5	30,6	9,6	0,7	51,8
	31,2	31,2	10,5	0,6	55,5
	31,7	31,8	12,0	0,4	58,5
[N _{111(2OH)}]Cl + Sacarose + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O					
5: 1	28,6	28,6	11,7	2,4	31,1
	29,3	29,2	17,3	1,7	44,1
	29,9	30,0	18,5	1,4	49,8
	30,5	30,6	21,5	1,1	55,0
	31,2	31,2	22,8	1,1	58,3
	31,8	31,7	25,8	0,9	59,4

Fonte: A Autora (2018)

TABELA D2 – RAZÃO MOLAR ENTRE RECEPTOR (RH) E DOADOR DE HIDROGÊNIO (DH)
NAS FASES DOS SISTEMAS: $[N_{111(2OH)}]Cl + Glucose + PPG\ 400 + H_2O$

Razão Molar RH: DH	Composição Global (% m/m)		DH: RH Razão molar		CLA
	DES	PPG 400	Fase rica em PPG	Fase rica em [N _{111(2OH)}]Cl	
[N _{111(2OH)}]Cl + Glucose + PPG 400 + H ₂ O					
2:1	14,0	33,0	1,04 ± 0,10	1,39 ± 0,14	62,2
1:1			0,51 ± 0,08	0,89 ± 0,17	53,7
1:2			0,25 ± 0,08	0,39 ± 0,08	56,6
2:1	15,0	35,0	0,68 ± 0,08	1,63 ± 0,12	63,5
1:1			0,67 ± 0,12	0,79 ± 0,11	63,3
1:2			0,45 ± 0,12	0,34 ± 0,07	60,0
2:1	17,5	37,0	0,97 ± 0,23	1,63 ± 0,08	71,0
1:1			0,64 ± 0,08	0,89 ± 0,06	73,0
1:2			0,32 ± 0,09	0,45 ± 0,13	74,1
2:1	20,0	40,0	0,91 ± 0,15	1,81 ± 0,12	81,7
1:1			1,01 ± 0,27	0,89 ± 0,09	79,8
1:2			0,39 ± 0,13	0,52 ± 0,10	81,7
2:1	22,5	45,0	1,31 ± 0,18	1,64 ± 0,15	91,3
1:1			0,85 ± 0,11	0,90 ± 0,08	88,3
1:2			0,32 ± 0,14	0,47 ± 0,06	85,3
[N _{111(2OH)}]Cl +Ureia + PPG 400 + H ₂ O					
2:1	17,5	37,0	0,42 ± 0,01	2,38 ± 0,09	74,8
1:1			0,27 ± 0,02	0,93 ± 0,11	66,4
1:2			0,21 ± 0,03	0,61 ± 0,15	60,3
2:1	20,0	40,0	0,37 ± 0,03	2,51 ± 0,09	88,8
1:1			0,19 ± 0,03	1,06 ± 0,36	76,0
1:2			0,17 ± 0,00	0,86 ± 0,00	71,2
2:1	22,5	45,0	0,26 ± 0,00	2,05 ± 0,05	90,9
1:1			0,43 ± 0,02	1,24 ± 0,01	84,4
1:2			0,08 ± 0,01	0,68 ± 0,20	77,7

Fonte: A Autora (2018)

TABELA D3 – RAZÃO MOLAR ENTRE RECEPTOR (RH) E DOADOR DE HIDROGÊNIO (DH)
NAS FASES DOS SISTEMAS: $[N_{4444}]Cl + Etanol/n-PROPANOL + C_6H_5K_3O_7 + H_2O$

Razão Molar RH: DH	Composição Global (% m/m)		DH: RH Razão molar		CLA
	C ₆ H ₅ K ₃ O ₇	DES	Fase rica em DES	Fase rica em C ₆ H ₅ K ₃ O ₇	
[N ₄₄₄₄]Cl + Etanol + C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ + H ₂ O					
pH 9					
2:1	25	30	2,03 ± 0,18	2,03 ± 0,28	
1:1			0,93 ± 0,02	1,02 ± 0,50	
1:2			0,51 ± 0,02	0,44 ± 0,20	
pH 5					
2:1	25	30	2,27 ± 0,20	0,29 ± 0,30	
1:1			1,88 ± 0,12	0,13 ± 0,00	
1:2			1,05 ± 0,01	0,01 ± 0,10	
[N ₄₄₄₄]Cl + <i>n</i> -Propanol + C ₆ H ₅ K ₃ O ₇ + H ₂ O					
pH 9					
2:1	25	30	2,04 ± 0,23	1,72 ± 0,33	
1:1			1,20 ± 0,22	0,41 ± 0,02	
1:2			0,55 ± 0,20	0,24 ± 0,04	
pH 5					
2:1	25	30	2,81 ± 0,40	0,22 ± 0,03	
1:1			2,95 ± 0,05	0,07 ± 0,36	
1:2			0,79 ± 0,30	0,08 ± 0,05	

APÊNDICE E

TABELA E1 – COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K_{AG}) E EFICIÊNCIA DA EXTRAÇÃO (EE_{AG} %) DE ÁCIDO GÁLICO (AG) E RESPECTIVOS DESVIOS PADRÃO (σ)

TL	Concentração inicial de AG (g L ⁻¹)	$K \pm \sigma$ ([AG] _{topo} /[AG] _{fundo})	Eficiência da Extração $\pm \sigma$ (EE _{topo} %)
[N _{111(2OH)}]Cl + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O			
1	0,25	6,5 ± 0,1	91,7 ± 0,1
6		34,8 ± 0,4	98,1 ± 0,1
1	0,50	4,2 ± 0,1	89,5 ± 0,1
6		16,6 ± 0,6	95,8 ± 0,2
1	0,75	10,9 ± 0,7	89,1 ± 0,1
6		4,7 ± 0,1	93,9 ± 0,4
[N _{111(2OH)}]Cl: glucose (2:1, razão mássica) + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O			
1	0,25	1,7 ± 0,1	52,1 ± 2,6
6		9,6 ± 0,7	86,0 ± 1,1
1	0,50	2,3 ± 0,6	55,6 ± 0,4
6		6,3 ± 0,7	80,8 ± 1,8
1	0,75	2,8 ± 0,1	62,3 ± 0,1
6		4,3 ± 0,8	73,5 ± 3,1
[N _{111(2OH)}]Cl: frutose (2:1, razão mássica) + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O			
1	0,25	2,0 ± 0,1	55,7 ± 1,1
6		4,9 ± 0,5	76,4 ± 1,6
1	0,50	1,8 ± 0,1	51,2 ± 0,3
6		5,2 ± 0,5	76,7 ± 1,7
1	0,75	1,8 ± 0,7	49,8 ± 0,0
6		3,5 ± 0,5	69,1 ± 2,5
[N _{111(2OH)}]Cl: sacarose (2:1, razão mássica) + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O			
1	0,25	2,8 ± 0,4	66,2 ± 2,9
6		12,9 ± 1,3	89,3 ± 0,9
1	0,50	2,9 ± 0,1	67,2 ± 0,1
6		11,2 ± 0,5	87,9 ± 0,5
1	0,75	2,6 ± 0,2	64,1 ± 1,9
6		5,5 ± 0,9	78,6 ± 0,6
TL	Concentração inicial de AG (g L ⁻¹)	K _{AG} ([AG] _{topo} /[AG] _{fundo})	K _{HDB} ([DH] _{topo} /[DH] _{fundo})
[N _{111(2OH)}]Cl: glucose (2:1, razão mássica) + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O			
1	0,50	2,3 ± 0,7	0,6 ± 0,0
2		2,4 ± 0,3	0,5 ± 0,0
3		3,1 ± 0,1	0,4 ± 0,0
4		3,7 ± 0,0	0,4 ± 0,0
5		3,8 ± 0,0	0,4 ± 0,1
6		6,3 ± 0,6	0,4 ± 0,1
[N _{111(2OH)}]Cl: frutose (2:1, razão mássica) + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O			
1	0,50	1,8 ± 0,1	0,7 ± 0,0
2		1,9 ± 0,0	0,6 ± 0,0
3		2,7 ± 0,1	0,5 ± 0,0
4		3,2 ± 0,0	0,5 ± 0,0
5		3,4 ± 0,1	0,5 ± 0,0
6		5,2 ± 0,5	0,4 ± 0,0
[N _{111(2OH)}]Cl: sacarose (2:1, razão mássica) + K ₂ HPO ₄ + H ₂ O			
1	0,50	2,9 ± 0,1	0,7 ± 0,0
2		3,0 ± 0,0	0,5 ± 0,0
3		3,9 ± 0,1	0,5 ± 0,0
4		5,0 ± 0,1	0,4 ± 0,0
5		7,1 ± 0,0	0,4 ± 0,0
6		11,2 ± 0,5	0,4 ± 0,0

Fonte: A Autora (2018)

TABELA E2– COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) E EFICIÊNCIA DA EXTRAÇÃO (EE %) DE DIFERENTES BIOMOLÉCULAS NO SISTEMA $[N_{111(2OH)}]Cl$ + GLUCOSE + PPG 400 + H_2O E RESPECTIVOS DESVIOS PADRÃO (σ)

RH: DH Razão molar	Composição global (% m/m)		K \pm σ Fase rica em $[N_{111(2OH)}]Cl$	EE % \pm σ Fase rica em $[N_{111(2OH)}]Cl$	K \pm σ Fase rica em $[N_{111(2OH)}]Cl$	EE % \pm σ Fase rica em $[N_{111(2OH)}]Cl$
	DES	PPG 400				
			L-Fenilalanina		L-Triptofano	
2:1	14,0	33,0	1,41 \pm 0,04	84,86 \pm 0,37	1,67 \pm 0,16	86,83 \pm 1,18
	17,5	37,0	1,52 \pm 0,03	76,44 \pm 0,37	3,12 \pm 0,26	86,94 \pm 0,95
	22,5	45,0	1,51 \pm 0,08	64,08 \pm 1,16	3,60 \pm 0,01	81,00 \pm 0,06
1:1	14,0	33,0	1,27 \pm 0,05	86,69 \pm 0,48	1,89 \pm 0,17	90,59 \pm 0,75
	17,5	37,0	1,48 \pm 0,03	73,05 \pm 0,38	2,45 \pm 0,19	81,75 \pm 1,18
	22,5	45,0	1,62 \pm 0,04	65,02 \pm 0,57	2,90 \pm 0,30	76,79 \pm 2,12
1:2	14,0	33,0	1,33 \pm 0,05	86,58 \pm 0,42	1,67 \pm 0,11	88,96 \pm 0,65
	17,5	37,0	1,45 \pm 0,03	73,27 \pm 0,36	2,32 \pm 0,03	81,40 \pm 0,18
	22,5	45,0	1,42 \pm 0,02	61,65 \pm 0,37	2,06 \pm 0,13	70,05 \pm 1,28
			L-Tirosina		Ácido Gálico	
2:1	14,0	33,0	0,93 \pm 0,08	78,57 \pm 1,48	0,50 \pm 0,00	66,26 \pm 0,15
	17,5	37,0	1,36 \pm 0,03	74,47 \pm 0,47	0,44 \pm 0,00	48,25 \pm 0,22
	22,5	45,0	1,11 \pm 0,02	56,80 \pm 0,36	0,70 \pm 0,15	45,05 \pm 5,19
1:1	14,0	33,0	0,99 \pm 0,02	83,55 \pm 0,27	0,53 \pm 0,07	72,88 \pm 2,46
	17,5	37,0	1,25 \pm 0,07	69,61 \pm 1,12	0,39 \pm 0,01	41,86 \pm 0,74
	22,5	45,0	1,33 \pm 0,05	60,36 \pm 0,88	0,52 \pm 0,08	37,05 \pm 3,53
1:2	14,0	33,0	0,89 \pm 0,02	81,21 \pm 0,31	0,48 \pm 0,06	69,79 \pm 2,45
	17,5	37,0	1,17 \pm 0,02	68,78 \pm 0,44	0,34 \pm 0,02	39,22 \pm 1,23
	22,5	45,0	1,04 \pm 0,05	54,11 \pm 1,12	0,50 \pm 0,04	35,70 \pm 4,33
			Ácido Vanílico		Cafeína	
2:1	14,0	33,0	0,27 \pm 0,04	51,62 \pm 3,51	0,82 \pm 0,01	76,49 \pm 0,21
	17,5	37,0	0,20 \pm 0,01	30,46 \pm 1,51	0,61 \pm 0,01	56,66 \pm 0,22
	22,5	45,0	0,27 \pm 0,05	24,34 \pm 3,23	0,49 \pm 0,07	36,69 \pm 3,16
1:1	14,0	33,0	0,23 \pm 0,01	54,54 \pm 1,21	0,83 \pm 0,06	80,87 \pm 1,17
	17,5	37,0	0,20 \pm 0,02	27,20 \pm 1,64	0,70 \pm 0,02	56,19 \pm 0,56
	22,5	45,0	0,25 \pm 0,03	22,08 \pm 1,95	0,59 \pm 0,08	40,10 \pm 3,10
1:2	14,0	33,0	0,26 \pm 0,02	55,35 \pm 2,31	0,82 \pm 0,07	79,77 \pm 1,32
	17,5	37,0	0,18 \pm 0,01	25,50 \pm 0,97	0,75 \pm 0,03	58,65 \pm 1,05
	22,5	45,0	0,29 \pm 0,00	24,74 \pm 0,24	0,60 \pm 0,01	40,57 \pm 0,34
			Nicotina			
2:1	14,0	33,0	0,44 \pm 0,03	63,28 \pm 1,71		
	17,5	37,0	0,39 \pm 0,00	45,48 \pm 0,07		
	22,5	45,0	0,52 \pm 0,09	38,08 \pm 4,13		
1:1	14,0	33,0	0,45 \pm 0,02	69,95 \pm 0,90		
	17,5	37,0	0,50 \pm 0,01	47,80 \pm 0,41		
	22,5	45,0	0,56 \pm 0,01	39,39 \pm 0,30		
1:2	14,0	33,0	0,48 \pm 0,04	69,64 \pm 1,80		
	17,5	37,0	0,58 \pm 0,01	52,42 \pm 0,54		
	22,5	45,0	0,64 \pm 0,01	42,17 \pm 0,31		

TABELA E3 – COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) E EFICIÊNCIA DA EXTRAÇÃO (EE %) DE DIFERENTES BIOMOLÉCULAS NO SISTEMA $[N_{111(2OH)}]Cl + OH + K_2HPO_4 + H_2O$ E RESPECTIVOS DESVIOS PADRÃO (σ)

Fração molar OH	K	EE %	Fração molar OH	K	EE %
L-Fenilalanina			L-Triptofano		
Etanol			Etanol		
0,00	23,4 ± 1,2	95,6 ± 0,2	0,00	158,3 ± 1,1	99,3 ± 0,0
0,33	18,8 ± 1,6	94,3 ± 0,5	0,33	114,0 ± 8,7	99,0 ± 0,1
0,50	17,4 ± 0,1	92,2 ± 0,6	0,50	107,4 ± 6,2	97,8 ± 0,1
0,67	17,5 ± 1,0	92,7 ± 0,1	0,67	109,0 ± 0,4	95,8 ± 0,0
1,00	20,0 ± 2,0	79,5 ± 0,5	1,00	107,6 ± 9,9	81,3 ± 0,3
<i>n</i> -Propanol			<i>n</i> -Propanol		
0,50	4,7 ± 0,1	16,34 ± 0,3	0,50	1,4 ± 0,1	5,4 ± 0,4
0,67	4,4 ± 0,2	29,9 ± 1,0	0,67	1,4 ± 0,0	12,0 ± 0,0
1,00	6,1 ± 0,6	68,1 ± 2,2	1,00	6,9 ± 0,3	70,8 ± 1,0
1,2-Propanodiol			1,2-Propanodiol		
0,00	19,0 ± 0,1	91,0 ± 0,0	0,00	180,5 ± 2,2	99,0 ± 0,0
0,33	18,2 ± 1,2	89,9 ± 0,6	0,33	169,9 ± 7,4	98,8 ± 0,1
0,50	21,8 ± 0,6	91,1 ± 0,2	0,50	160,2 ± 5,2	98,7 ± 0,0
0,67	22,5 ± 0,4	91,6 ± 0,1	0,67	152,5 ± 0,2	98,7 ± 0,0
1,00	17,7 ± 1,0	90,4 ± 0,5	1,00	30,2 ± 8,6	94,0 ± 1,6
Etileno glicol			Etileno glicol		
0,00	19,0 ± 0,1	91,0 ± 0,0	0,00	180,5 ± 2,2	99,0 ± 0,0
0,33	16,8 ± 0,6	88,7 ± 0,3	0,33	126,5 ± 5,6	98,3 ± 0,1
0,50	15,4 ± 0,3	86,5 ± 0,3	0,50	71,2 ± 1,3	96,7 ± 0,1
0,67	4,9 ± 0,0	50,0 ± 0,2	0,67	5,4 ± 0,6	52,0 ± 2,6
L-Tirosina			Glicina		
Etanol			Etanol		
0,00	6,4 ± 0,1	85,5 ± 0,1	0,00	0,2 ± 0,0	14,5 ± 0,1
0,33	7,4 ± 0,1	86,7 ± 0,1	0,33	0,1 ± 0,0	13,3 ± 0,1
0,50	5,0 ± 0,2	79,0 ± 1,3	0,50	0,1 ± 0,0	21,0 ± 1,3
0,67	5,7 ± 0,4	82,0 ± 0,9	0,67	0,1 ± 0,0	18,0 ± 0,9
1,00	5,7 ± 0,2	75,0 ± 0,3	1,00	0,1 ± 0,0	25,0 ± 0,3
<i>n</i> -Propanol			<i>n</i> -Propanol		
0,50	0,5 ± 0,1	2,2 ± 0,1	0,50	0,3 ± 0,0	1,2 ± 0,0
0,67	0,7 ± 0,1	6,1 ± 0,3	0,67	0,2 ± 0,0	2,3 ± 0,1
1,00	1,4 ± 0,0	33,5 ± 0,1	1,00	0,2 ± 0,0	7,1 ± 0,4
1,2-propanodiol			1,2-propanodiol		
0,00	6,4 ± 0,1	77,1 ± 0,3	0,00	0,1 ± 0,0	5,3 ± 0,6
0,33	6,3 ± 0,2	75,7 ± 0,6	0,33	0,1 ± 0,0	4,2 ± 0,6
0,50	5,2 ± 0,3	70,7 ± 1,3	0,50	0,2 ± 0,0	7,8 ± 0,6
0,67	6,9 ± 0,4	76,8 ± 1,1	0,67	0,2 ± 0,0	7,1 ± 0,1
1,0	4,2 ± 0,1	69,1 ± 0,4	1,00	0,4 ± 0,0	16,0 ± 1,2
Etileno glicol			Etileno glicol		
0,00	6,4 ± 0,1	77,1 ± 0,3	0,00	0,1 ± 0,0	5,3 ± 0,6
0,33	5,5 ± 0,1	72,2 ± 0,4	0,33	0,2 ± 0,0	3,9 ± 5,1
0,50	6,1 ± 0,5	71,7 ± 1,6	0,50	0,2 ± 0,0	3,9 ± 4,9
0,67	3,2 ± 0,0	39,7 ± 0,1	0,67	0,4 ± 0,1	6,9 ± 0,9

Fração molar OH	K	EE %	Fração molar OH	K	EE %
Ácido Vanílico			Ácido Gálico		
Etanol			Etanol		
0,00	107,3 ± 4,0	99,0 ± 0,0	0,00	14,0 ± 0,3	92,8 ± 0,1
0,33	105,9 ± 3,6	98,9 ± 0,0	0,33	10,6 ± 0,4	80,0 ± 1,1
0,50	38,6 ± 1,3	97,3 ± 0,2	0,50	10,7 ± 0,4	64,9 ± 0,3
0,67	43,2 ± 3,9	96,1 ± 0,0	0,67	7,9 ± 0,5	65,7 ± 1,3
1,00	37,3 ± 0,5	73,9 ± 2,3	1,00	0,2 ± 0,0	8,3 ± 0,2
<i>n</i> -Propanol			<i>n</i> -Propanol		
0,50	0,5 ± 0,1	2,1 ± 0,3	0,50	0,1 ± 0,0	0,4 ± 0,0
0,67	0,6 ± 0,0	5,8 ± 0,2	0,67	0,1 ± 0,0	0,9 ± 0,1
1,00	3,2 ± 0,3	52,5 ± 2,1	1,00	0,1 ± 0,0	3,8 ± 0,4
1,2-propanodiol			1,2-propanodiol		
0,00	77,9 ± 2,8	97,6 ± 0,1	0,00	32,8 ± 2,2	94,5 ± 0,3
0,33	76,3 ± 3,9	97,4 ± 0,1	0,33	29,0 ± 2,1	93,4 ± 0,4
0,50	73,0 ± 6,1	97,1 ± 0,2	0,50	32,0 ± 1,1	93,7 ± 0,2
0,67	56,0 ± 2,7	96,4 ± 0,2	0,67	23,1 ± 3,0	91,7 ± 1,0
1,00	18,1 ± 2,6	90,5 ± 1,3	1,00	13,2 ± 0,2	87,6 ± 0,1
Etileno glicol			Etileno glicol		
0,00	77,9 ± 2,8	97,6 ± 0,1	0,0	32,8 ± 2,2	94,5 ± 0,3
0,33	66,4 ± 3,4	96,9 ± 0,1	0,33	28,7 ± 2,2	93,1 ± 0,5
0,50	52,3 ± 1,1	95,6 ± 0,1	0,50	10,7 ± 1,2	81,5 ± 1,7
0,67	36,8 ± 3,1	88,2 ± 0,9	0,67	3,4 ± 0,5	59,4 ± 3,6
Cafeína			Nicotina		
Etanol			Etanol		
0,00	59,4 ± 0,3	98,2 ± 0,0	0,00	29,9 ± 3,6	96,4 ± 0,4
0,33	78,2 ± 6,8	98,6 ± 0,1	0,33	74,3 ± 3,5	98,5 ± 0,1
0,50	68,1 ± 3,4	97,4 ± 0,0	0,50	70,5 ± 5,8	97,6 ± 0,0
0,67	55,6 ± 0,6	97,4 ± 0,1	0,67	66,5 ± 4,7	98,2 ± 0,0
1,00	68,5 ± 2,1	91,7 ± 0,0	1,00	72,6 ± 4,4	93,7 ± 0,4
<i>n</i> -Propanol			<i>n</i> -Propanol		
0,50	9,8 ± 0,9	28,9 ± 1,9	0,50	84,6 ± 5,9	77,8 ± 1,2
0,67	9,0 ± 1,2	46,3 ± 3,4	0,67	115,5 ± 8,7	91,8 ± 0,6
1,00	68,4 ± 0,6	96,0 ± 0,0	1,00	54,2 ± 4,0	95,0 ± 0,4
1,2-propanodiol			1,2-propanodiol		
0,00	129,6 ± 1,1	98,6 ± 0,0	0,00	82,8 ± 0,4	97,8 ± 0,0
0,33	118,2 ± 7,8	98,3 ± 0,1	0,33	72,8 ± 0,5	97,3 ± 0,0
0,50	112,2 ± 4,3	98,1 ± 0,1	0,50	88,7 ± 1,3	97,6 ± 0,0
0,67	119,7 ± 2,0	98,3 ± 0,0	0,67	99,9 ± 2,7	98,0 ± 0,1
1,00	99,5 ± 6,7	98,2 ± 0,1	1,00	72,7 ± 5,1	97,5 ± 0,2
Etileno glicol			Etileno glicol		
0,00	129,6 ± 1,1	98,6 ± 0,0	0,00	82,8 ± 0,4	97,8 ± 0,0
0,33	107,5 ± 9,1	97,9 ± 0,0	0,33	78,9 ± 4,0	97,4 ± 0,1
0,50	88,1 ± 5,4	97,4 ± 0,1	0,50	79,5 ± 3,5	97,1 ± 0,1
0,67	---	^a	0,67	27,5 ± 0,3	84,8 ± 0,1

^a ocorreu a precipitação da cafeína.

TABELA E4 – COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (K) E EFICIÊNCIA DA EXTRAÇÃO (EE %) DE DIFERENTES BIOMOLÉCULAS NO SISTEMA $[N_{4444}]\text{Cl} + \text{OH} + \text{K}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 + \text{H}_2\text{O}$ E RESPECTIVOS DESVIOS PADRÃO (σ)

Fração molar de OH	<i>K</i> <i>EE</i> %		<i>K</i> <i>EE</i> %	
Ácido Gálico				
Etanol	pH 9		pH 5	
0,0	20,2 ± 0,8	93,7 ± 0,2	20,5 ± 2,1	97,2 ± 0,4
0,33	21,7 ± 1,1	93,61 ± 0,3	19,2 ± 1,2	97,3 ± 0,2
0,50	23,4 ± 3,0	94,0 ± 0,8	19,6 ± 0,3	97,5 ± 0,1
0,67	22,2 ± 1,9	92,9 ± 0,6	16,1 ± 1,1	96,9 ± 0,2
1,0	0,7 ± 0,1	28,5 ± 2,4	1,0 ± 0,3	70,1 ± 1,0
<i>n</i> -Propanol	pH 9		pH 5	
0,0	20,2 ± 0,8	93,7 ± 0,2	20,5 ± 2,1	96,7 ± 0,6
0,33	25,4 ± 1,9	94,5 ± 0,6	23,7 ± 0,2	96,4 ± 0,1
0,50	26,4 ± 1,0	94,7 ± 0,2	20,1 ± 1,5	94,8 ± 0,4
0,67	20,9 ± 2,0	92,5 ± 1,0	13,9 ± 0,2	91,7 ± 0,1
1,0	1,4 ± 0,1	44,6 ± 1,0	1,2 ± 0,2	33,1 ± 2,0
Cafeína				
Etanol	pH 9		pH 5	
0,0	21,1 ± 0,3	93,9 ± 0,1	11,6 ± 0,2	93,3 ± 0,1
0,33	20,4 ± 0,2	93,3 ± 0,1	12,9 ± 0,0	93,4 ± 0,1
0,50	25,8 ± 0,3	94,5 ± 0,1	10,9 ± 0,1	91,7 ± 0,1
0,67	27,0 ± 0,6	94,1 ± 0,1	10,7 ± 0,0	91,4 ± 0,2
1,0	16,8 ± 0,9	90,7 ± 0,4	8,1 ± 0,0	87,6 ± 0,1
<i>n</i> -Propanol	pH 9		pH 5	
0,0	21,1 ± 0,3	93,9 ± 0,1	11,6 ± 0,2	93,3 ± 0,1
0,33	22,7 ± 0,5	93,8 ± 0,1	11,1 ± 0,2	92,3 ± 0,1
0,50	16,7 ± 0,2	91,0 ± 0,1	13,1 ± 0,4	92,2 ± 0,2
0,67	20,0 ± 0,1	92,3 ± 0,0	9,8 ± 0,2	88,5 ± 0,2
1,0	23,0 ± 0,1	90,8 ± 0,1	8,5 ± 0,1	78,7 ± 0,1
L-Triptofano				
Etanol	pH 9		pH 5	
0,0	21,3 ± 1,6	94,0 ± 0,4	5,0 ± 0,2	89,3 ± 0,3
0,33	19,5 ± 1,8	93,0 ± 0,6	5,9 ± 0,1	91,7 ± 0,1
0,50	21,7 ± 1,5	93,6 ± 0,4	5,2 ± 0,1	91,3 ± 0,2
0,67	24,5 ± 0,3	93,7 ± 0,1	3,6 ± 0,6	87,3 ± 1,7
1,0	3,9 ± 0,0	69,3 ± 0,1	1,1 ± 0,2	71,4 ± 3,3
<i>n</i> -Propanol	pH 9		pH 5	
0,0	22,0 ± 0,5	94,2 ± 0,1	2,5 ± 0,1	75,0 ± 0,7
0,33	14,5 ± 2,0	90,7 ± 1,2	5,2 ± 0,8	85,5 ± 1,9
0,50	15,1 ± 1,2	91,0 ± 0,6	5,6 ± 0,4	83,5 ± 1,0
0,67	11,2 ± 0,7	86,9 ± 0,8	3,9 ± 0,3	75,5 ± 1,2
1,0	2,9 ± 0,0	62,8 ± 0,1	1,6 ± 0,9	49,3 ± 0,2